

Title	Bacillus brevisのEdeine B ₁ 変換酵素について
Sub Title	
Author	滝沢, 直美(Endo, Toyoshige) 井関, 明子 遠藤, 豊成
Publisher	共立薬科大学
Publication year	1987
Jtitle	共立薬科大学研究年報 (The annual report of the Kyoritsu College of Pharmacy). No.32 (1987.) ,p.145- 146
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	学会講演要旨
Genre	Technical Report
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00062898-00000032-0164

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

グラフィーを用いて、それぞれの酵素を SDS-PAGE において単一に精製した。酵素活性は、アセチル-CoA から生成する CoA の SH 基を DTNB で検出する Ellman 法を用いて測定した。

〔結果〕 PMM シンターゼは硫酸分画の段階でクエン酸シンターゼと分離し、約 700 倍まで精製した。Sephadex G-100 のゲル濾過法で PMM シンターゼの分子量は 90—98 K、クエン酸シンターゼのそれは 78 K ダルトンであった。SDS-PAGE によるサブユニットの分子量は PMM シンターゼが 48 K、クエン酸シンターゼは 43 K であり、両酵素とも 2 個のサブユニットから成ると考えられる。両酵素の性質を調べたところ、大きな差異として、PMM シンターゼは 2 価の金属イオンを必要とし、クエン酸シンターゼは EDTA により阻害を受けていないことから、金属イオンが触媒反応に関与していない点で異なっていた。また、N 末から 10 数個のアミノ酸配列を比較したところ、共通点は見い出されなかった。

- * 東大応微研
- ** 明菓薬開研
- *** 明菓薬品研

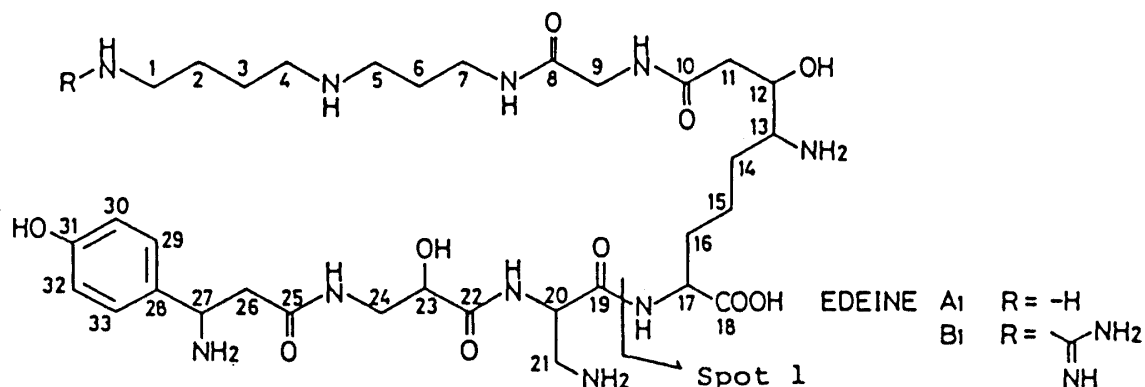
Bacillus brevis の Edeine B₁ 変換酵素について

滝沢直美, 井関明子, 遠藤豊成

〔日本薬学会 第 107 年会 (1987年 4 月, 京都) で発表〕

〔目的〕 *Bacillus brevis* TT 02-8 株は Mn²⁺ 含有培地で育成させると edeine B₁ の変換活性を示し、脱アミジン反応を行うことが観測される¹⁾。今回、この変換活性に対する種々の金属イオンの影響について検討すると共に変換酵素の精製を試みた。

〔方法及び結果〕 Mn²⁺ 含有培地を用い TT 02-8 株の洗浄菌体を調製し edeine B₁ と反応させると変換成績体として edeine A₁ 及びその分解物である Spot 1 が生成する。Mn²⁺ 非含有培地の洗浄菌体は edeine B₁ に変換活性を示さないが、反応液に Mn²⁺ を添加すると edeine B₁ の変換活性を示したことにより、Mn²⁺ が変換の活性化に関与すること、及び変換酵素の存在が示唆された。本報では本変換反応における種々の金属イオンの影響を検討したところ、Mn²⁺ の他に Co²⁺ 添加条件でも edeine B₁→edeine A₁→Spot 1 への変換が認められたが、Ni²⁺ では Spot 1 へ



の変換はわずかであった。Cu²⁺, Zn²⁺ は変換の活性を示さなかった。Cell-free 系においても同様の結果が観測された。

1) 滝沢他, 日本薬学会 第 106 年会講演要旨集 p. 288 (1986)

Blasticidin S deaminase を生産する *Bacillus cereus* の プラスミドのクローニング

小林 香, 遠藤豊成, 鎌倉高志*, 山口 勇*, 田中暉夫**

〔日本薬学会 第 107 年会 (1987年 4 月, 京都) で発表〕

〔目的〕 *Bacillus cereus* に属する一菌株は, BS-deaminase を産生し, blasticidin S (BS) に耐性を示す¹⁾。本菌株はアガロースゲル電気泳動によりプラスミドを含んでいることが認められ, 耐性遺伝子との関連性が示唆されてきた²⁾。本報では, 耐性遺伝子のクローニングを行い, 他属での発現について検討したので報告する。

〔方法及び結果〕 *B. cereus* K 55-S 1 のもつプラスミド pBSR 8 (10.5 kb) をベクター pNC 602 に連結して *B. subtilis* MI 112 の形質転換をした結果, BS 耐性を示した菌株には BS-deaminase 活性が認められた。同株より cleared lysate 法で抽出したプラスミド pNB 79 について, 制限酵素による解析を行ったところ, pBSR 8 由来の一領域と思われる 1.5 kb の断片のみが組み込まれていることが認められた。この DNA 断片を切り出し, pUC 19 に連結して *E. coli* の系での再クローニングを行ったところ, *B. subtilis* 同様に, BS 耐性の発現がみられた。これより, 本 DNA 断片上に BS-deaminase 構造遺伝子 (*bsr*) が存在するものと考え, 現在, DNA 塩基配列の決定及び同遺伝子の諸性質の解析を試みている。

1) 遠藤ら, 日本薬学会第 103 年会講演要旨集 p. 279 (1983)

2) 遠藤ら, 日本薬学会第 106 年会講演要旨集 p. 288 (1986)

* 理研

** 三菱生命研

Blasticidin S deaminase 構造遺伝子 *bsr* のクローニング

鎌倉高志*, 小林香, 遠藤豊成, 田中暉夫**, 山口 勇*

〔日本分子生物学会 第 9 回 (1986年12月, 名古屋) で発表〕

Blasticidin S (BS) は農業用抗生物質として用いられてきたアミノアシルヌクレオシド系抗生物質であり, 広範な生物種に対して, 蛋白質合成阻害活性を有する。BS 耐性株として分離された *Bacillus cereus* K 55-S 1 には, 不活化酵素 BS deaminase をコードした 10.5 kb のプラスミドが存在する¹⁾。このプラスミドから, 耐性遺伝子を *Bacillus subtilis* 及び *Escherichia coli* にク