

## Studies on Functional Evaluation of Lipid II Binding Moieties of Lantibiotic Nukacin ISK-1

カレッド, モハメド サミル イルサイド アビドイルカリム

<https://hdl.handle.net/2324/1807113>

---

出版情報：九州大学, 2016, 博士（農学）, 課程博士  
バージョン：  
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）

氏名	カレド モハメド サミル イルサイド アビドイルカリム			
論文名	Studies on Functional Evaluation of Lipid II Binding Moieties of Lantibiotic Nukacin ISK-1 (ランチビオティック Nukacin ISK-1 の標的分子 Lipid II との相互作用領域の解析に関する研究)			
論文調査委員	主査	九州大学	教授	園元 謙二
	副査	九州大学	教授	竹川 薫
	副査	九州大学	准教授	中山 二郎

## 論文審査の結果の要旨

ランチビオティック nukacin ISK-1 は 27 アミノ酸から成る抗菌性ペプチドであり、N 末端の線状領域と C 末端の環状領域から構成されている。環状領域には、異常アミノ酸であるランチオニン環が 3 つ存在する (Rings A, B, C)。これまでの研究で、nukacin ISK-1 は細胞壁前駆体 lipid II を標的分子として細胞壁合成を阻害することや、Ring A が lipid II と強く相互作用することが報告されている。本研究は、nukacin ISK-1 と lipid II との相互作用の領域について、より詳細に検討したものである。

lipid II と相互作用する nukacin ISK-1 のアミノ酸残基をより簡便に決定するために、*Bacillus subtilis* の 2 成分制御システム、LiaRS (lipid II cycle interfering antibiotic response regulator and sensor) レポーターアッセイを検討している。LiaRS は lipid II と特異的に作用する抗生物質の簡便な検索システムである。まず、nukacin ISK-1 の Ring A 領域のアミノ酸変異体を精製して用い、Ring A が lipid II との特異的な相互作用に関与していることを見出している。この結果は、等温滴定型熱量計を用いた nukacin ISK-1 と lipid II との相互作用解析結果と符合したことから、LiaRS レポーターアッセイの有用性を認めている。また、nukacin ISK-1 の他の領域の変異体について検討し、N 末端の線状領域中の Lys1、Lys2、Lys3 および Gly5、Ring B と Ring C も lipid II との相互作用に関与していることを見出している。さらに、これら nukacin ISK-1 変異体の抗菌活性と lipid II との相互作用に相関があることも示している。

次に、nukacin ISK-1-lipid II 複合体構造情報をさらに詳細に得るために、nukacin ISK-1 に対して界面活性剤 n-octyl- $\beta$ -D-glucoside ( $\beta$ OG) と lipid II の二段階滴定を行い、NMR を用いて nukacin ISK-1 の  $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$  二次元相関スペクトルの測定を行っている。nukacin ISK-1 への  $\beta$ OG の添加に伴い、疎水性アミノ酸に富む Ring C 領域において、各残基の高磁場側への化学シフト変化を観測している。続く lipid II の添加により、Ring A の近傍領域と Ring C 領域の残基に化学シフト変化を認めている。これらの結果から、Ring C が lipid II のイソプレノイド鎖と相互作用することを推定している。また、リン酸基を含む界面活性剤ドデシルホスホコリンの添加でも、Ring A 近傍領域の化学シフト変化が観測されたことから、この領域が lipid II のリン酸基と相互作用していることも示唆している。これらの相互作用情報は、前述した LiaRS レポーターアッセイの結果によっても支持される。

以上要するに、本研究は、ランチビオティック nukacin ISK-1 の標的分子 lipid II との相互作用解析方法を新たに構築し、詳細な知見を見出したものであり、分子微生物学および微生物工学の発展に寄与する価値ある業績と認める。

よって、本研究者は博士（農学）の学位を得る資格を有するものと認める。