



## Doctoral Thesis

# **Aufklärung des Wirkungsmechanismus der Tobramycin-Adenylyltransferase durch chemische Analyse der enzymatischen Endprodukte**

**Author(s):**

Schwotzer-Eberhard, Ursula

**Publication Date:**

1978

**Permanent Link:**

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000267695> →

**Rights / License:**

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss ETH 6222

Aufklärung des Wirkungsmechanismus der  
Tobramycin - Adenylyltransferase  
durch chemische Analyse der enzymatischen Endprodukte

---

ABHANDLUNG

zur Erlangung  
des Titels eines Doktors der Naturwissenschaften  
der  
EIDGENOESSISCH TECHNISCHEN HOCHSCHULE ZUERICH

vorgelegt von

URSULA SCHWOTZER-EBERHARD  
eidg. dipl. Apothekerin  
geboren am 24.Juli 1949  
von Eggersriet (Kt.St.Gallen)

Angenommen auf Antrag von  
Prof. Dr. X.Perlia, Referent  
Prof. Dr. F.H.Kayser, Korreferent

1978

## VI KURZFASSUNG

---

Eine epidemiologische Studie zur Frequenz der Resistenz von Staphylokokken gegen Aminoglycoside zeigte, dass 2% der Isolate von Staphylococcus epidermidis gegen Tobramycin und andere Aminoglycoside resistent waren, aber empfindlich gegen Gentamicin  $C_{1a}$ ,  $C_1$ ,  $C_2$  und Sisomicin (F.H.Kayser et al., 1974). In einer Studie zur Genetik dieser Resistenz konnte ein  $2,7 \times 10^6$  Dalton Plasmid für die Resistenz verantwortlich gemacht werden (L.L.Rosendorf und F.H. Kayser, 1974; F.H.Kayser et al., 1976 a). Dieses Plasmid trug ein Gen, welches ein Enzym codierte, das Aminoglycoside adenylylierte. Es wurde mit dem Trivialnamen Tobramycin - Adenylyltransferase bezeichnet.

Um den genauen Angriffsort dieses Enzyms an den Aminoglycosiden abzuklären, wurden modifizierte Aminoglycoside isoliert und ihre Struktur mit physikalisch-chemischen, chemischen und mikrobiologischen Methoden bestimmt.

Diese Strukturaufklärung ergab, dass die Angriffspunkte des Enzyms die äquatorialen Hydroxylgruppen in 4'-Stellung und in 4"-Stellung der Aminoglycoside darstellen. Sind in einem Aminoglycosidmolekül beide Hydroxylgruppen vorhanden, so adenylyliert die Tobramycin - Adenylyltransferase bevorzugt in 4'-Stellung. Fehlt die eine oder die andere der beiden Hydroxylgruppen, wird die noch verbleibende modifiziert.

Der eigentliche Strukturbeweis wurde erstmals in der Geschichte der Strukturbestimmung von modifizierten Aminoglycosiden mittels der  $^{13}\text{C}$ -Kernresonanzspektroskopie durchgeführt.

Auf Grund der Tatsache, dass neben ATP auch andere Nucleotidyltriphosphate als Cosubstrate durch die Tobramycin - Adenylyltransferase verwendet werden können (P.Santanam und F.H.Kayser, 1978), wurde das Enzym als Aminoglycosid 4',4"-Nucleotidyltransferase oder ANT(4',4") bezeichnet.

ABSTRACT

An epidemiological study of the frequency of resistance of staphylococci to aminoglycoside antibiotics showed (F.H.Kayser et al., 1974) that 2% of isolates of Staphylococcus epidermidis were resistant to tobramycin and other aminoglycosides, but susceptible to gentamicin C<sub>1a</sub>, C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub> and sisomicin. In a genetic study of aminoglycoside resistance in such strains it was found that resistance was conferred by a  $2,7 \times 10^6$  dalton plasmid (L.L.Rosendorf and F.H. Kayser, 1974; F.H.Kayser et al., 1976 a). This plasmid had a gene, which determined an enzyme that adenylylated aminoglycosides. This enzyme was called tobramycin-adenylyltransferase.

Enzymatic endproducts of this enzyme were isolated and purified. Their structures were determined by physico-chemical, chemical and microbiological methods.

The structure determination of the modified aminoglycosides has proven that the equatorial hydroxylgroups in 4'-position and 4"-position are the points of attack by this enzyme. The tobramycin-adenylyltransferase prefers to adenylylate the 4'-position, if both hydroxylgroups are present in an aminoglycoside molecule. If one of the two hydroxylgroups is absent the other one is adenylylated. This mode of action of tobramycin-adenylyltransferase explains the broad spectrum of substrates that surpasses, in range, the substrate spectrum of all the aminoglycoside modifying enzymes which have been characterised hitherto.

It is the first time in the story of the structure determination of modified aminoglycosides that <sup>13</sup>C-NMR spectroscopy has been used as a tool to determine the structure of such substances.

Tobramycin-adenylyltransferase can use besides ATP other nucleoside 5'-triphosphates as cofactors in the enzymatic reaction (P.Santanam and F.H.Kayser, 1978). It is proposed therefore, to call the enzyme aminoglycoside 4',4"-nucleotidyltransferase (ANT(4',4")).