

氏名	佐藤 一 精 さとう かず よし
学位の種類	工 学 博 士
学位記番号	工 博 第 228 号
学位授与の日付	昭 和 45 年 9 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	工 学 研 究 科 工 業 化 学 専 攻
学位論文題目	Studies on the Corrinoïds and Porphyrins in Streptomyces (放線菌におけるコリノイドとポルフィリンに関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 福 井 三 郎 教 授 穴 戸 圭 一 教 授 野 崎 一

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、*Streptomyces olivaceus* 605 におけるコリノイド（ビタミン B₁₂ 類の総称）とポルフィリンに関する研究をまとめ、2編6章から成る本論および緒論と総括を含んでいる。放線菌（Streptomyces）は、ストレプトマイシンなどの各種抗生物質を生産する菌として有名であるがかなりの量のビタミン B₁₂ を作ることもよく知られており、1948年放線菌からストレプトマイシン醗酵生産の際の副産物として単離されて以来、放線菌による B₁₂ 醗酵生産についての研究は数多くなされている。しかしながら、この菌における B₁₂ の役割についての研究は、従来全くなされていない。本論文は、B₁₂ 生産菌である *Streptomyces olivaceus* 605 における B₁₂ の生合成と B₁₂ 関与の酵素系を解明することを主要点とし、かつ B₁₂ と途中まで共通の前駆体から生成することが知られているポルフィリンの生合成を B₁₂ 生合成と関連させて調べて、両者の調節機構を解明しようとしたものである。

第1編では、放線菌におけるコリノイド化合物の型とその役割を調べた。第1章では B₁₂ が関与する酵素反応を知るためまず B₁₂ の型を明らかにしようとしている。すなわち B₁₂ 生産に適するグルコース・ラクトース培地を用いて、かなり長時間培養して得た菌体から B₁₂ 体を抽出単離して検討し、6—ジメチルベンズイミダゾリルコバミド補酵素（DBCC）が主要なものとして存在していることを明らかにした。

第2章では、培養のかなり初期で DBCC の下方配位子が存しないコペンアミド補酵素（CC）と B₁₂ の上方配位子がメチル基であるメチル B₁₂ も作ることを見出した。コバルトの添加量が極めて微量のとき CC は B₁₂ 生合成の前駆体であるにもかかわらず培養の極めて初期の段階でもほとんど検出されず、メチル B₁₂ や DBCC の割合が大部分を占め、培養後期に近づくにつれてメチル B₁₂ の生成量は減少し DBCC の割合が増加した。このことから Me-B₁₂ が *S. olivaceus* の代謝において重要な役割を演じていると推定され、DBCC は少なくとも一部は B₁₂ の貯蔵のための形態であるものと推定した。

第3章では第2章の結果から B₁₂ 関与のメチオニン合成系を想定しその証明を行なった。又、生成したメチオニンは、B₁₂ や抗生物質、例えばマイトマイシン、テトラサイクリンなどメチル基を持つ抗生物質

のメチル供与体として利用されると推定した。

第2編では、*S. olivaceus* におけるコリノイド生成とポルフィリン生成の間の関係について検討している。

第1章では、培地中に蓄積するポルフィリンが、コリノイドと同じ側鎖配列をしているコプロポルフィリンⅢと同定した。

第2章では、ビタミン B₁₂ やヘムなどの最終生成物の添加培養で、途中まで共通の前駆体から生成するコリノイドやポルフィリンの生合成に影響が及び、B₁₂ やその関連化合物の添加では、コリノイド生成が抑制され、ポルフィリン蓄積が増加することを見出した。このような効果は、これらテトラピロール化合物の生合成経路中で重要な役割を演じる δ -アミノレブリン酸(δ -ALA)の脱水酵素の活性に対しても認められ、B₁₂ やポルフィリンの生合成の調節に δ -ALA脱水反応の段階の酵素系が重要な役割を持つことが示された。又、ポルフィリンが多量に蓄積する条件下では、 δ -ALA脱水酵素とウロポルフィリン生成酵素とが、複合体を形成していることを認め、これが最終生成物による調節を受けにくいことを見出した。

第3章では、この複合体様化合物に赤色素が含まれそれがコリノイドの中心原子のコバルトが欠除した Co-free B₁₂ であることを明らかにし、コリノイド生合成菌におけるこの種の化合物の存在をはじめて証明した。このものの存在により上記の複合酵素系が形成され易くなり、コリノイドの前駆体が十分量存在するとき、前駆体の流れをポルフィリンの方へ流すのを容易にすると論じた。

論文審査の結果の要旨

この論文はビタミン B₁₂ 生合成能の高い *Streptomyces olivaceus* 605 におけるコリノイド (ビタミン B₁₂ 群化合物の総称) とポルフィリン系化合物の生合成間の相互関係と、この菌におけるビタミン B₁₂ の役割について研究した結果をまとめている。得られた成果の主なものは次の通りである。

(1) *Streptomyces olivaceus* 605 を B₁₂ 生産に適するグルコース・ラクトース培地を用いて最大増殖に達する少し手前で培養を停止し、菌体中の B₁₂ の型を種々の方法で調べて大部分が5,6-ジメチルペンズイミダゾリル・コバミド補酵素であることを証明した。つぎに培養経過を追って B₁₂ 生成と型を調べた結果、培養のかなり初期では DBCC の下方配位子が欠けたコビンアミドの補酵素型 (CC) と B₁₂ の上方配位子がメチル基であるメチル B₁₂ の存在が認められた。この事実はこの菌における B₁₂ 関与のメチル基転移反応系の存在を示唆し、また DBCC の生合成経過に情報を与えたものである。

(2) *Streptomyces olivaceus* 605 の菌体中に B₁₂ 関与のメチオニン生合成系の存在することを証明し、その最終段階を触媒する N⁵-メチルテトラヒドロ葉酸-ホモシスチンメチルトランスフェラーゼを部分精製し酵素学的性質を調べた。この酵素は通性嫌気性菌では大腸菌のものについての詳細な研究があるが、放線菌のような好気性菌で、しかも B₁₂ 合成力をもつ微生物では従来見るべき研究がなかったものである。

(3) *Streptomyces olivaceus* 605 を用いて、生合成経路の前半部が共通するコリノイドとポルフィリンの生合成の相互関係について興味深い結果を得た。すなわち、培地にあらかじめ B₁₂ や B₁₂ 関与のメチル基転移反応の最終生成物であるメチオニンを添加しておくことコリノイドの生成が抑制され、ヘムを添加

しておくともヘム生合成の中間体であるコプロポルフィリンⅢなどが蓄積し、最終生成物阻害現象が起こることが認められた。

(4) 上記の現象をより詳細に調べる目的で、コリノイドやポルフィリンの生合成経路で重要な役割を演じる δ -アミノレブリン酸(δ -ALA)脱水酵素における代謝調節機構について研究した。その結果、ポルフィリン系化合物の生合成経路が優勢な条件で得られた菌体からは、 δ -ALA脱水酵素とウロポルフィリン生成酵素が未知の赤色色素と複合体を形成し、ヘムによるフィードバック阻害がかからない状態となっていることを示した。

(5) この未知色素を分離し、種々の性質から B_{12} の生合成中間体であるコピリン酸で、コバルトを含まない構造をもつことを証明した。

以上要するに、本論文は放線菌におけるテトラピロール系化合物の生合成における代謝調節現象につき、 δ -ALA脱水酵素を中心として詳細に調べ、 B_{12} の工業的生産につき情報を与えるとともに、 B_{12} の生合成および生化学的役割について新しい情報を与えたもので、学術上および工業上寄与するところが少なくない。

よって、本論文は工学博士の学位論文として価値あるものと認める。