

氏名	難波宏彰 なんばひろあき
学位の種類	農学博士
学位記番号	論農博第614号
学位授与の日付	昭和51年1月23日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	<b>Studies on the Chemical Structure and Biosynthetic Pathway of Cell Wall Polysaccharides in <i>Cochliobolus miyabeanus</i></b> (イネごま葉枯病菌における細胞壁多糖類の化学構造と生合成に関する研究)
論文調査委員	(主査) 教授 駒野 徹 教授 緒方浩一 教授 深海 浩

### 論文内容の要旨

微生物は細胞壁を界して外界と接し、細胞壁は栄養素、薬剤、あるいは代謝産物の透過性に重要な役割をはたしている。本研究においては、本邦稲作に多大の害を与えている代表的な植物病原性糸状菌、イネごま葉枯病菌について、薬剤の透過性を知る上で重要な手掛かりとなる細胞壁の構造と、その生合成過程を明らかにしたものである。

菌糸から超音波処理と洗浄とをくり返して得た細胞壁は約40%の中性多糖と50%の塩基性多糖とを含有していた。中性多糖は酸加水分解あるいは $\beta$ -グルコンダーゼ処理により、グルコースのみを遊離し、加酢分解ではラミナリピオースが得られた。またメチル化により2,3,4,6-テトラ-O-メチル、2,4,6-トリ-O-メチル-2,4-ジ-O-メチル-D-グルコースがモル比3:10:2で得られた。これらの結果から中性多糖は $\beta$ -1,6結合の分枝鎖をもつ $\beta$ -1,3 グルカンであると結論した。

塩基性多糖は酸加水分解によりグルコサミンと少量のガラクトサミンを与え、その赤外線吸収スペクトルはカニ甲殻キチン標品と一致した。しかしこの多糖のX線回折像はキチン標品とは一致せず、2N塩酸、または $\alpha$ -N-アセチルガラクトサミンダーゼ処理をしてはじめてX線回折像がキチン標品と一致した。そこでこの塩基性多糖をキチン様物質とよんだ。酵素処理をしても分子量の低下がなかったこと、さらにメチル化により3,4,6-トリ-O-メチル-D-グルコサミンが得られたことなどから、この塩基性多糖は、キチン分子鎖にN-アセチルガラクトサミンがC-1で $\alpha$ -型に結合した構造をもつものであると結論した。

つぎに、これら多糖類の生合成について検討した。菌糸破砕物(粗酵素画分)または顆粒酵素画分によりUDP-グルコース、UDP-N-アセチルグルコサミンがそれぞれ活発に多糖画分に取り込まれた。また顆粒酵素画分により合成された中性多糖は、有機化学的および酵素化学的手法によって調べたところ細胞壁から得られた中性多糖と構造は一致した。

しかし、顆粒酵素画分を用いて合成された新生キチン様物質にはN-アセチルガラクトサミンの存在が認められず、粗酵素画分を使用した時はじめて細胞壁から得られたキチン様物質と一致する標品が得られ

た。このことは基質である UDP-*N*-アセチルグルコサミンの一部が、粗酵素画分により *N*-アセチルガラクトサミンに変えられ、これがキチン分子鎖に縮合してキチン様物質が生成するものと結論した。

### 論文審査の結果の要旨

本論文はイネごま葉枯病菌の細胞壁の主構成成分である中性多糖と塩基性多糖の化学構造と、それらの生合成過程について明らかにしたものである。

著者はまず菌糸から細胞壁を分離し、その約40%の組成をなす中性多糖を抽出・精製した。酸加水分解、酵素分解、加酢分解、およびメチル化等の反応の結果、この中性多糖はグルコースが単一成分であり、グルコースの  $\beta$ -1,3 結合が主分子鎖であり、この分子鎖にグルコースが  $\beta$ -1,6 結合で分枝鎖をなしている構造をとっていることが明らかとなった。

つぎに細胞壁より約50%の組成をなす塩基性多糖を抽出・精製した。酸加水分解により、この塩基性多糖はグルコサミンと少量のガラクトサミンとからなることがわかった。この多糖の赤外線吸収スペクトルはカニ甲殻キチン標品と一致したが、X線回折像は一致せず、このことからこの多糖をキチン様物質とよんだ。キチン様物質は  $\alpha$ -*N*-アセチルガラクトサミニダーゼ処理するとガラクトサミン残基を遊離し、得られた多糖のX線回折像はキチン標品と一致することがわかった。酵素処理によっても分子量の低下が認められなかったこと、メチル化により 2,4,6-トリ-O-メチル-D-グルコサミンが得られたこと、および上記の事実などから、この多糖はキチン分子鎖に *N*-アセチルガラクトサミンが C-1 で  $\alpha$ -型に結合した分枝構造をもっていることが明らかとなった。

さらに著者は、菌体より菌糸破砕物(粗酵素画分)と顆粒酵素画分とを調製し、基質に UDP-グルコースや UDP-*N*-アセチルグルコサミンを加えると多糖画分に活発に取り込まれることを認めた。また顆粒酵素画分により合成された中性多糖は細胞壁の中性多糖標品と同一の構造をもつことを明らかにした。

一方、顆粒酵素画分により合成された新生キチン様物質は *N*-アセチルガラクトサミンを含んでおらず、粗酵素画分を用いることによりはじめて細胞壁キチン様物質と一致する標品が得られることが明らかとなった。以上のことから著者は、粗酵素画分により UDP-*N*-アセチルグルコサミンの一部が *N*-アセチルガラクトサミンに変えられ、これが顆粒酵素画分によってキチン分子鎖に縮合し、*N*-アセチルガラクトサミン分枝鎖をもったキチン様物質が生成することを明らかにした。

以上のように本論文は、イネごま葉枯病菌の細胞壁多糖類の化学構造とそれらの生合成過程を明らかにしたもので、多糖類の化学と生化学、微生物生化学に貢献するところが大きい。

よって、本論文は農学博士の学位論文として価値あるものと認める。