

氏名	小 牧 実 秀 こ まき さね ひで
学位の種類	農 学 博 士
学位記番号	農 博 第 1 号
学位授与の日付	昭和34年 3 月23日
学位授与の要件	農学研究科農芸化学専攻・博士課程修了者 (学位規則第5条第1項該当)
学位論文題目	The Studies on the Nature of the Racemiasse of Acetone-Butyl Alcohol-producing Bacteria (アセトン・ブタノール醗酵細菌のラセミアーゼの性質に関する研究) (主 査)
論文調査委員	教 授 片 桐 英 郎 教 授 満 田 久 輝 教 授 井 上 吉 之

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、アセトン・ブタノール醗酵細菌 (*Clostridium acetobutylicum*) の生産するラセミアーゼの性質に関する研究を取り扱ったもので、3編 19章にわたって論述し、2, 3の新しい知見をえている。

まず第一に、ラセミアーゼの生産と各種の培養条件(培養液の組成、培養時間など)との関係を吟味し、当該細菌のラセミアーゼは適応酵素の一種であることを肯定している。一方、培養液から硫酸で塩析して得られる酵素標品について、その作用条件を詳細に検討し、ラセミアーゼの作用は鉄によって促進せられ、KCN によって完全に、また、リン酸塩によっても相当に阻害されることから、ラセミアーゼの作用は鉄と重要な関係があることを推論している。

第二に、当該細菌の培養ろ液を硫酸で塩析して得られる酵素標品をさらに精製する場合に、硫酸塩析を繰り返す手段では、酵素の活性が次第に低下する。また、透析手段でも内液の酵素活性は透析の進行につれていちじるしく減退すること、ついで、透析外液の減圧濃縮液を添加すれば透析によって失った内液の酵素作用力が回復することを実証し、この結果から、当該細菌のラセミアーゼは透析または塩析の反復によって助酵素 (Co-racemiasse) を失うことを明らかにしている。

つぎに、自然界における助酵素の所在を、とうもろこし、麦芽、血清、牛乳、ペプトン等の多数の動物性物質および微生物について吟味し、酵母抽出液が最も有効であることを指摘している。

第三に、当該細菌の助酵素の性質を細菌酵素液の透析外液および酵母抽出液について検索して、50%エタノールに可溶、85%アセトンに不溶性であり、耐酸性は比較的強いがアルカリに不安定であること、活性炭もしくはアンバライトに吸着せられ、それらからそれぞれ硫酸もしくは塩酸で脱着されること、さらに、酢酸バリウムおよびエタノールを用いて分別すれば、バリウム可溶エタノール不溶区分に助酵素が見いだされることを指摘している。

Rf は、酪酸を溶媒とする場合には 0.75 であって、また、リン酸緩衝液による極大吸収は 250m μ および 320~340m μ 附近であることなど、*Cl.acetobutylicum* のラセミアーゼの助酵素は乳酸菌のラセミアーゼの助酵素である DPN (Diphosphopyridine nucleotide) と一致しない。また、アラニンラセミアーゼ、

グルタミン酸ラセマーゼなどの助酵素と推論されている Pyridoxal phosphate と一致しない。これらの実験結果から、*Cl.acetobutylicum* の Co-racemase は PAMP (Pyridoxamine -5- phosphate) と Fe^{++} とであるとの結論を裏書きしている。

第四に、ラセミアーゼの作用は D- 乳酸脱水素酵素と L- 乳酸脱水素酵素との共同作用であるとのビルビン酸説を批判する目的で、当該ラセミアーゼについて乳酸脱水素酵素の有無を検したが、いずれのラセミアーゼ標品についても乳酸脱水素酵素の存在を証明できないことから、この説を否定している。ついで、乳酸の α 位の OH 基と β 位の H 基との間に脱水が起こって、乳酸からアクリル酸を生ずるとのアクリル酸説、 $CH_3.CHOH.CO_2H \rightleftharpoons CH_2=CH.CO_2H$ については、*Cl.acetobutylicum* のラセミアーゼ標品または PAMP と Fe^{++} とを Co-racemase とする当該細菌の Apo-racemase によってもアクリル酸から DL- 乳酸を生ずること、さらに、乳酸菌はラセミアーゼを有する DL- 乳酸生成菌に限ってアクリル酸から DL- 乳酸を生ずるのであって、ラセミアーゼを有しない D- 乳酸生成菌もしくは L- 乳酸生成菌は、いずれもアクリル酸に作用しないことなどの研究結果から、アクリル酸から乳酸の生成は特定の酵素によるものではなく、ラセミアーゼそれ自体の呈する現象であること、いいかえればラセミアーゼの作用機構としてアクリル酸説が合理的であることを論じている。

論文審査の結果の要旨

光学的活性乳酸をラセミ化する酵素ラセミアーゼは、わが国で発見せられ、光学的不活性乳酸生成菌は内生酵素として菌体内に、また、アセトン・ブタノール醗酵細菌は外生酵素として当該酵素を培養液中に生産することが指摘されている。

本論文は、アセトン・ブタノール醗酵細菌の生産するラセミアーゼの性質に関する研究を取り扱ったものであって、まず、ラセミアーゼの生産条件の研究から、当該酵素は一種の適応酵素であることを肯定し、ついで、当該酵素の精製実験から、ラセミアーゼを助酵素と補酵素とに分割できることを明らかにした。

さらに、助酵素の性質を詳細に検討した結果、当該助酵素は乳酸菌のラセミアーゼの助酵素 Diphosphopyridine nucleotide、もしくは、アラニンラセマーゼ、グルタミン酸ラセマーゼなどの助酵素 Pyridoxal Phosphate のいずれとも一致しないこと、いいかえれば、アセトン・ブタノール醗酵細菌のラセミアーゼの助酵素は Fe^{++} と Pyridoxamine -5- phosphate とであるとの結論を裏書きしている。

なお、アクリル酸から乳酸の生成現象がすべてのラセミアーゼ標品によって起こること、ことに、乳酸菌についてはラセミアーゼを有するもの、すなわち、光学的不活性乳酸生成菌に限ってこの現象が起こることを実証し、ラセミアーゼの作用機構としてアクリル酸説が合理的であることを論じたものであって、農学博士の学位論文として価値あるものと認める。

〔主論文公表誌名〕

未 定

〔参 考 論 文〕

な し