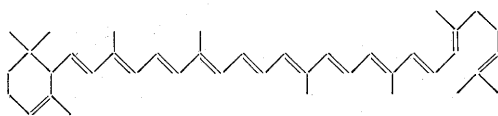


氏名	鈴 江 銀 三 郎 すず え ぎん さぶ ろう
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	理 博 第 3 1 号
学位授与の日付	昭 和 3 6 年 3 月 2 3 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	理 学 研 究 科 化 学 専 攻
学位論文題目	黄色ブドウ状球菌 (<i>Staphylococcus aureus</i>) の酵素抽出液によるカロチノイド生合成に関する研究
	(主 査)
論文調査委員	教 授 田 中 正 三 教 授 芦 田 讓 治 教 授 後 藤 良 造

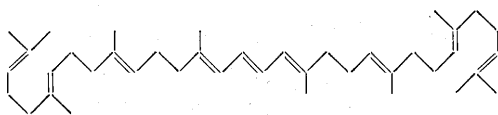
論 文 内 容 の 要 旨

カロチノイド色素はステロイドやテルペノイド化合物などと同様に、酢酸からメバロン酸などを経て生成することが、トマト、アカパンカビなどについて証明されているが、まだ酵素レベルでの生合成に関する報告はない。

著者は δ -カロチン (I) およびルビキサンチンを含む黄色ブドウ状球菌を、オキシテトラサイクリン、クロロテトラサイクリンなどを含む培地に培養して次第に耐性を高めると、ついに無色の耐性変異株を生ずることを認めた。この変異株が原株のもつ有色カロチノイドの代わりにフィトエン (II) を蓄積していることを発見し、おもにこの変異株の菌体抽出液を用いてメバロン酸からフィトエンの生合成の研究を行ったものが主論文である。



δ -カロチン (I)



フィトエン (II)

主論文第1部では、黄色ブドウ状球菌 209 P 株を、ペプトン・肉エキス・食塩・グリセロールよりなる培地で培養してえた菌体の脂質を抽出して、その不飽和物を光電比色的に追究し、短時間または酸素供給のふじゅうぶんな培養条件下ではフィトエンがおもに認められるが、好气的条件では δ -カロチンとルビキサンチンが蓄積していることを明かにした。この結果は炭素数の少ない物質を材料として、まずフィトエンのような共役二重結合の少ない無色カロチノイドが生成し、これが逐次酸化されて有色カロチノイ

ドに変化することを示唆する。

第2部では、大量培養したテトラサイクリン耐性の無色変異株の不鹼化物を、活性アルミナを用いてカラムクロマトグラフィーで分画して、その主成分が、紫外線および赤外線吸収スペクトル、硫酸呈色、クロロホルム・三塩化アンチモン呈色、無水酢酸・硫酸呈色などによりフィトエンであり、有色カロチノイドは生成されていないことを確認した。

第3部では、無色変異株菌体をアルミナ磨砕し、pH8.0のトリス緩衝液で抽出したものの遠心上澄液を用いて〔2-C¹⁴〕-メバロン酸を基質として反応を行なわせ、不鹼化物のカラムクロマトグラフィーにより、放射性フィトエンの生成を確認した。なおこの際助酵素としてATP、TPNH、2価金属イオンが必要であり、またフツ素イオンやニコチンアミドを添加して、助酵素のヌクレオチドや中間体と考えられるリン酸化化合物の酵素的分解を防止すると、フィトエンの生成に好結果をもたらすことを認めた。

第4部では、上述の変異株菌体抽出液を硫酸分画して沈殿精製した酵素標品を用いて、第3部と同様の方法によりフィトエンの生成を研究し、補助因子などについてさらに詳しい検討を行なった。これによると前記の助酵素のほかにFADが不可欠であり、また表面活性剤のTween 20の添加でフィトエンの生成は促進される。また2価金属イオンのうちMn⁺⁺が特に有効であることや、この生合成には嫌気的条件が好都合であり、空气中で反応を行なわせる時にはシステインの添加が効果的であることなどが明かにされた。

参考論文その1では、テトラサイクリンを含む培地に黄色ブドウ状球菌209P株を累代培養して耐性獲得をはかり、ついに300μg/ml以上の高濃度中でも生育する耐性変異株をえたが、この変異株は原株がもつ有色カロチノイドを含まず、これの生合成過程に障害がおこっていることが判明した。

参考論文その2では、従来均質のものかどうか不明であったアコヤ貝 (*Pinctada martensii*) の貝殻の硬蛋白のコンキオリンを、70%酢酸、2-Nアンモニア・銅エチレンジアミン・塩化テトラピリジニコバルト溶液などによって分画し、多元的なものであることを証明した。またこの各分画のN末端およびC末端アミノ酸の決定を行なった。

論文審査の結果の要旨

主論文は酵素レベルでのカロチノイドの生合成に関する研究である。カロチノイド色素はステロイドやテルペノイド化合物など同様の過程を経て酢酸から合成されることが、トマトア、カパンカビなどについて証明されているが、まだ酵素レベルでの生合成に関する報告はみない。鈴江銀三郎は黄色ブドウ状球菌209P株の原株が、好氣的培養条件下ではδ-カロチンおよびルビキサンチンの有色カロチノイドを含んで黄金色を呈するが、この原株をテトラサイクリンを含む培地に累代培養して耐性を獲得させた変異株は無色となり、この無色変異株はカロチノイドとして共役二重結合の少ないフィトエンのみを含んでいることを発見した。原株も比較的酸素のふじゅぶんな培養条件ではフィトエンを蓄積するが、好氣的条件下では有色カロチノイドを生成することを認めて、カロチノイドの生成に際しては、炭素数の少ない材料からまず無色のフィトエンができ、これが逐次酸化されて共役二重結合の多い有色カロチノイドに変化するものであり、無色変異株ではフィトエンの酸化過程に障害がおこっているとした。

さらにこの変異株菌体の抽出液およびその硫酸分画でえられた酵素標品を用いて、C¹⁴を含むメバロン

酸を基質として反応を行なわせ、放射性フィトエンの生成することを確認し、酵素レベルでのカロチノイドの生合成に成功した。この反応には ATP,TPNH,FAD などの助酵素類や Mn^{++} の共存が必要であり、また Tween 20 のような表面活性剤の添加や嫌氣的条件が好結果を与えることも明かにした。

参考論文その 1 は主論文の先駆をなすテトラサイクリン耐性の黄色ブドウ状球菌の変異株に関するものである。

参考論文その 2 はアコヤ貝貝殻の硬蛋白質のコンキオリンを分画し、各分画の末端アミノ酸の決定を行なった研究である。

要するに、鈴江銀三郎は生物化学の分野での豊富な知識とすぐれた研究能力をもっており、イソプノイドの生合成に関し新知見を加えて大きい寄与をした。よって、本論文は理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〕

- 第 1 部 The Journal of Biochemistry, Vol. 46 (1959), No. 11
- 第 2 部 Archives of Biochemistry and Biophysics, Vol. 88 (1960), No. 1
- 第 3 部 Biochimica et Biophysica Acta, Vol. 45 (1960), No. 3
- 第 4 部 The Journal of Biochemistry, Vol. 50 (1961), 予定

〔参 考 論 文〕

1. Carotenogenesis and Resistance of *Micrococcus pyogenes* to Tetracyclines
(黄色ブドウ状球菌のカロチノイド生合成とテトラサイクリン耐性) (田中正三と共著)
公表誌 Science, Vol.129 (1959), No.3359
2. Biochemical Studies on Pearl VII.
Fractionation and Terminal Amino Acids of Conchiolin (真珠の生化学的研究 7, コンキオリンの分画と末端アミノ酸) (田中正三ほか 1 名と共著)
公表誌 The Journal of Biochemistry, Vol.47 (1960), No.1