

氏名	菊池忠壽 きくちただとし
学位の種類	理学博士
学位記番号	論理博第88号
学位授与の日付	昭和40年3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>Sulfur metabolism of copper resistant yeast strains</b> (銅耐性酵母菌の硫黄代謝)
論文調査委員	(主査) 教授 芦田 讓治 教授 新家 浪雄 教授 北村 四郎 教授 田中 正三

### 論 文 内 容 の 要 旨

酵母菌は、含銅培地で訓練すれば、銅耐性株を生じる。この耐性株の細胞は、含銅培地に培養した場合、多量の銅を蓄積する。他方、いろいろの酵母株の中には、銅に接触することなしに、銅耐性の比較的高い株がある。論文の第1部は、後者の銅耐性株について研究したものである。

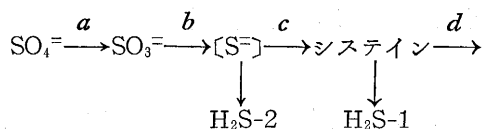
3段階の異なる銅耐性をもつ半数体株を選び、これらを互いにかけてあわせると、得られた2倍体は、両親のうち耐性の高い方に等しい耐性を示した。これらの株を、生長阻害のない程度の含銅培地で培養すると、耐性の高い株の方が銅含量の低い傾向があり、この点は、含銅培地で訓練して得た耐性株と異なっていた。銅耐性の異なる株を、いろいろの銅濃度の培地に接種すると、生長を阻害する銅濃度では、二次的に耐性細胞の生長が起こり、これとともに細胞が著しく硫化銅を蓄積する。銅の害をうけ易い株は、いろいろの阻害剤のうち、パラクロロ水銀安息香酸と亜硫酸の害をうけ易く、したがって、チオール化合物が銅耐性に関係があるらしく考えられた。

訓練によって得られる銅耐性株は、培地の硫酸根を還元して多量の硫化水素を生成する。そこでまず、硫酸還元過程の一段階にある亜硫酸根を基質とした硫化水素生成を調べたのが、第2部である。耐性株を無銅培地に培養したものと、母株とは、生長の対数期よりも定常期において、硫化水素生成が著しく、また、嫌気条件下では、その生成が抑えられた。しかし、含銅培地で培養した細胞では、硫化水素生成が少なく、培養時間が長くなるほどその生成能が低下した。いろいろの銅濃度の培地で訓練した株を比較すると、0.3ミリモルを越えない培地から得た株は、すべて母株と同程度の硫化水素生成能しかなく、0.4ミリモル以上では、3ミリモルまで、どの濃度で訓練された株も、すべて同じ程度の高い硫化水素生成能を示した。そして、この高い硫化水素生成能は、サルチルアルドキシムによって甚だしく阻害をうけた。

第3部では、まず、母株を含銅培地に接種し、同じ組成の培地に継代培養すると、継代の初期には、硫酸を基質とした硫化水素生成能のいろいろ違う細胞が混在するが、継代が進むに従って、硫化水素生成能の高い細胞が優越してくることが示され、訓練によれば、硫化水素生成能の極めて高い株が得られる過程

が明らかにされた。硫化水素生成能の異なる株を銅培地に培養すると、細胞の銅と硫化物の含量、および菌体収量が、硫化水素生成能と平行した。0.6ミリモルで訓練した株を、さらに2ミリモルで訓練すると、銅耐性は高まるが、継代の進むに従って、硫化水素生成能の低い細胞、および呼吸欠損変異細胞（これは硫化水素を生成しない）が増加していった。この点、亜硫酸からの硫化水素生成の場合と違っている。こうして得た高濃度銅耐性株は、銅培地に培養すると、銅含量は高いが、硫化物含量はこれに伴わない。

第4部は、硫化水素生成能の高い銅耐性株での、硫化水素生成反応をつきとめようとしたものである。いろいろの硫黄化合物を、単独に、あるいは組み合わせて与えた場合の硫化水素生成にもとづいて、チオ硫酸は、硫酸から硫化水素への主経路にないものと考え、次の模式を提出した。



これら諸反応段階のうち、*a* の速度は、母株では小さいが、銅耐性株ではその数倍である。反応 *b* は、母株でもかなり進行し得るが、実際の速度は、母株では *a* の進行に律速されている。したがって、母株においては、細胞内に生じた硫化物はほとんどすべてシステインとなり、反応 *d* で使いきらないシステインがあれば、 $\text{H}_2\text{S}-1$  として放出されるにすぎない。これに反し、耐性株では、*a* したがって *b* の進行が早いから、反応 *c* で利用しきれない硫化物が多量に  $\text{H}_2\text{S}-2$  とし放出されると結論した。なお、反応 *a* は、パントテン酸の存在で、また亜鉛あるいは鉄の欠乏で、阻害を受け易いこと、耐性株におけるシステイン合成は、システインスルフィン酸やスルフォシステインの系を経ないことなども推論している。

参考論文は、銅培地で培養した銅耐性株の細胞を電子顕微鏡で観察して、細胞膜の内外に、電子密度の高い沈殿が多量にあることを示し、電子およびX線解析により、この沈殿が銅のいろいろの硫化物であることを推定したものである。

### 論文審査の結果の要旨

論文は、比較的高い銅耐性を本来もっている株と、含銅培地で訓練することによって得られる銅耐性株とについて、硫黄代謝を中心として検討したものである。後者には、著しい硫化水素生成により銅を沈殿、無毒化する耐性機構があるので、これに関連して、硫酸還元の前段階の速度を、耐性株と母株につき比較し、いろいろの解析方法を考案して、興味ある結論に達している。また、硫化水素生成能と銅耐性との関係を多面的に検討し、硫化水素生成の少ない銅耐性株においても、チオール化合物のような含硫物質が耐銅性に関係をもつらしいことを推論している。

要するに菊池忠寿は、本論文において、豊富な生物学および生化学的知識と技術を用い、銅耐性酵母における硫黄代謝の様相と意義を明らかにし、生理学上貢献するところが少なくない。よって本論文は、理学博士の学位論文として、十分の価値があるものと認める。