

氏名	福 村 隆 ふく むら たかし
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	論 理 博 第 121 号
学位授与の日付	昭 和 40 年 12 月 14 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>Bacterial breakdown of <math>\epsilon</math>-caprolactam and related substances</b> (細菌による $\epsilon$ -カプロラクタムと関連物質の分解)
論文調査委員	(主 査) 教 授 芦 田 讓 治 教 授 北 村 四 郎 教 授 新 家 浪 雄 教 授 田 中 正 三

### 論 文 内 容 の 要 旨

この論文は、ナイロン6の原料である $\epsilon$ -カプロラクタムと、その環状および鎖状オリゴマーが、ある種の微生物によって分解、利用される現象と、この分解に關与する酵素について研究したものである。

著者は、ナイロン合成工場の水系に微生物が生じていることから、これら微生物が、上記の物質を唯一の炭素源兼窒素源として生育するものであろうと推定し、そのような性能をもつ細菌若干株を分離することに成功した。これらは、既知の *Pseudomonas* 2種と *Achromobacter* 1種のほかに、*Corynebacterium* の新種2種を含む。

著者はまず、 $\epsilon$ -カプロラクタムを炭素・窒素源とする培地でこれらの細菌を培養するため、 $\epsilon$ -カプロラクタムの最適濃度をきめ、また、*Corynebacterium* では、生長因子として微量のチアミンが必要であることを明らかにした。ついで、 $\epsilon$ -カプロラクタムに關連のある物質、すなわち、7種のラクタム類、7種の $\omega$ -アミノ酸、6-アミノカプロン酸の環状および鎖状オリゴマー類、有機酸類のアンモニウム塩、 $\alpha$ -アミノ酸類、その他を利用する能力を調べ、それらの内、 $\gamma$ -ブチロラクタム、 $\delta$ -バレロラクタム、4-アミノ酪酸、5-アミノ吉草酸、6-アミノカプロン酸、およびアジピン酸アンモニウムが資化され得ることを知った。最後の2物質は、 $\epsilon$ -カプロラクタム利用における中間物質と想像される。また、*Corynebacterium* の1種は、 $\epsilon$ -アミノカプロン酸の環状および鎖状オリゴマーをも利用するが、環状ダイマーは利用しないことを発見した。

つぎに、高い $\epsilon$ -カプロラクタム水解活性をもつ2株を用い、 $\epsilon$ -カプロラクタム、 $\gamma$ -ブチロラクタムあるいは $\delta$ -バレロラクタムを与えると、それぞれ、 $\epsilon$ -アミノカプロン酸、 $\gamma$ -アミノ酪酸、あるいはアミノ吉草酸が培地に検出された。しかし、それらの菌を、アジピン酸アンモニウムで前培養した場合は、ラクタムの水解量は極めて僅かであり、ラクタムの水解酵素は、適応酵素であると思われた。事実、アジピン酸に培養した菌に、クロランフェニコールの存在においてラクタムを与えると、水解は全く起こらなかった。

$\epsilon$ -カプロラクタム培養菌を用い、クロランフェニコール存在下で $\epsilon$ -カプロラクタムの水解経過をみる

と、培地中のカプロラクタムの減少と、6-アミノカプロン酸の増加とがよく対応し、前者から後者が生じ、後者が僅かに呼吸に消費されることが推定された。

以上のようなラクタム水解酵素を細胞外にとりだすため、いろいろの試みを行なったが、いずれも成功しなかった。しかし、6-アミノカプロン酸のオリゴマーを水解する菌株からは、その水解酵素を抽出することができたので、この酵素について研究を行なった。

この抽出標品は、生菌と同様に環状ダイマーを水解することはできない。環状四量体の水解最適 pH は 7.6 付近であるのに対し、鎖状二量体の水解最適 pH は 8.6 付近にあること、および、環状四量体を pH 6.6 で水解すると、鎖状二量体が多く生じるのに対し、pH 7.6~8.6 では 6-アミノカプロン酸が多く生じることから、この細菌抽出標品には、少なくとも2種の酵素、すなわち、環状オリゴマーの開環に関与する酵素と、鎖状オリゴマーの水解に関与する酵素とが含まれているものと推定された。

環状および鎖状オリゴマーを水解する酵素活性は、アジピン酸アンモニウム培養菌の抽出液にも若干存在するが、環状四量体で前培養した菌体の抽出液には、その約2倍、環状三量体培養菌体抽出液には約6倍の活性が対蛋白量活性として認められた。しかし、この酵素活性は、 $\epsilon$ -カプロラクタムや環状二量体によっては誘導されなかった。環状四量体水解活性は、環状三量体によっても誘導されるので、両物質を水解する酵素が同一である可能性が考えられる。

環状三量体を与えて培養した菌体の抽出液を硫酸分画すると、環状体水解活性と、鎖状二量体水解活性とが、別の分画として得られ、それぞれの活性は、さらに DEAE セルロースを用いるカラムクロマトグラフィーで、高度に濃縮された。第1の標品は、環状三量体、四量体、五量体、鎖状三量体、四量体に対しては活性を示すが、 $\epsilon$ -カプロラクタム、環状および鎖状の二量体には作用しない。第2の標品は、全部の鎖状オリゴマーに対して活性があり、すべての環状体には不活性であった。そして、両標品の作用によって各物質から生じる水解生産物を量的に検討した結果、第1の酵素は、環状オリゴマーを開環する作用と、鎖状オリゴマーの特定の末端（多分N末端）から2番目のアミド結合を切る作用をもち、6-amino-caproic oligomer endoamido hydrolase とよび得るものであり、第2の酵素は、鎖状オリゴマーの一端（多分N末端）から、6-アミノカプロン酸を切り離す作用をもち、6-aminocaproic oligomer exoamido-hydrolase とよび得るものであると結論した。そして、両酵素とも、補酵素を必要としないことをも確かめた。

### 論文審査の結果の要旨

この論文は、 $\epsilon$ -カプロラクタムとその同族列物質、および6-アミノカプロン酸の環状および鎖状オリゴマーという、天然にはおそらく存在しないであろうと思われる合成物質を利用して生育する細菌数株を分離し、これらに関する微生物学的、酵素学的研究を行なったものである。

$\epsilon$ -カプロラクタムは、アミド結合の水解により6-アミノカプロン酸となり、さらに $\epsilon$ -アミノ基が除かれること；ラクタムのアミノ結合を水解する酵素が、細菌体で誘導合成されるものであること；この酵素は $\epsilon$ -カプロラクタム・ $\gamma$ -ブチロラクタム・ $\delta$ -バレロラクタムのいずれにも働くことなどを証明し、あるいは推定するに足る実験結果を得た。また、二重体を除く6-アミノカプロン酸の環状オリゴマーを開環する活

性と鎖状オリゴマーの一端から2番目のアミド結合を切る作用をもつ酵素, および, 鎖状オリゴマーの一端から6-アミノカプロン酸を一つずつ切り離す酵素とを分離し, それぞれある程度精製して, その性質をしらべた。これらの研究結果は, 生物学的にも, 酵素学的にも, 興味深い新発見であって, それらの分野に貢献するところが多く, また, 著者の高い研究能力を示している。

よって, 本論文は理学博士の学位論文として価値があるものと認める。