

## 綜 報

# Biotin と 稻 熱 病

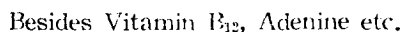
田 中 正 三

我國の稲作に年々最大の被害を與えている稻熱病は稻熱病菌と呼ぶ糸狀菌が寄主の葉や穂首を犯す病害であるが、この病原菌は糸狀菌であるのに合成培地での培養が仲々困難で北大の枋内教授考案の培養液<sup>1)</sup>で辛うじて生育するが氣中菌糸や孢子形成は全く起らない。処がこの液に稻蘖煎汁を少量添加すると極めて旺盛な生長が起ることが著者と平田によつて発見され、この稻蘖の含む有効物質の追究が行われていたが最近になつて漸くこれがビタミン B 群の一つである Biotin であることが明かとなつた<sup>3)</sup>。この菌の生長には Biotin の外に Thiamine と Folic acid が補助因子として有効であるが、これらも夫々單獨では効力がなく又他の既知のビタミン類やアミノ酸類も無効であり、後述するように寄主の罹病性と關係してこの菌に対する Biotin の生理的意義には仲々興味深い問題が潜んでいる。微生物が高等生物と同様にその生命活動に特種の微量作用物質を必要とすることは現在では既知の事実となつて居り、哺乳動物でのビタミン缺乏症は微生物では直に生長阻害に現われてくるので、これらの作用物質を生長促進物質の名で呼んでいるが本質的にはビタミン等と同一物質であり、これらが生体に攝取されてからの作用機構も極めて似たものであることが判明している。生長促進物質の発見の端緒は遠く Pasteur, Liebig<sup>5), 6)</sup>の時代に発するが、これを確認し或程度迄の性質を明かとしたのは白耳義の Wildiers<sup>7)</sup>であり酵母の生長に不可欠な作用物質を酵母煎汁や麦芽汁から分離してこれに Bios の名を附したのにはじまる。ビタミンが発見当初にはその存在が激しく論議されたように Bios も発見後 20 年近くは肯否相半ばする有様であつたが、この原因が試験生物として使用した酵母の品種の相異にあつたことが判明した。即ち Copping<sup>8)</sup>が 23 種の酵母を使用して Wildiers の Bios の必要性を検した結果第 1 表に示すように酵母にはその生長に Bios 添加を全く不要とするものと絶対に不可欠とするものがあり

Tabl 1

|                 |                      |
|-----------------|----------------------|
| 1st group       | Willia anomala       |
| (yeasts which   | Mycoderma cerevisiae |
| grow vigorously | Saccharomyces logos  |
| without bios)   | etc.                 |

Table 2



及び Biotin は微生物の生長促進物質としての研究が実を結び後にこれが哺乳動物のビタミンでもあることが判明したものであり、他は生長素とビタミンの研究が夫々無関係に行われていて同一物質であることがわかつたものである。これらの生長促進物質の有効濃度は微生物によつて相異なるが乳酸菌の一種に一例をとると第3表の様に  $10^{-5}$  乃至  $10^{-9}$  で糖やアミノ酸類の有効濃度とは雲泥の差がある。この内 Biotin は特に微量で有効な物質であり既知の微量作用物質中でも第一級に属するものであることが第4表でわかつた。この作用物質は 1936年に Kögl<sup>12)</sup> によつて酵母や卵黄の煎汁から獣炭吸着によつて別けられた物質中から手の込んだ方法ではじめて単離されたもので、250g の卵黄から僅かに 1.1mg の収量で得られ、 $C_{10}H_{16}O_3N_2S$  の分子式を有する塩基性酸性両様の性質のある結晶性物質で推定分子量は約 200 といわれ、その構造や作用機構については研究進行中に第二次世界大戦となつた。

Table 3.

The lowest concentration of the nutrients manifested in the growth of *Streptobacterium plantarum*

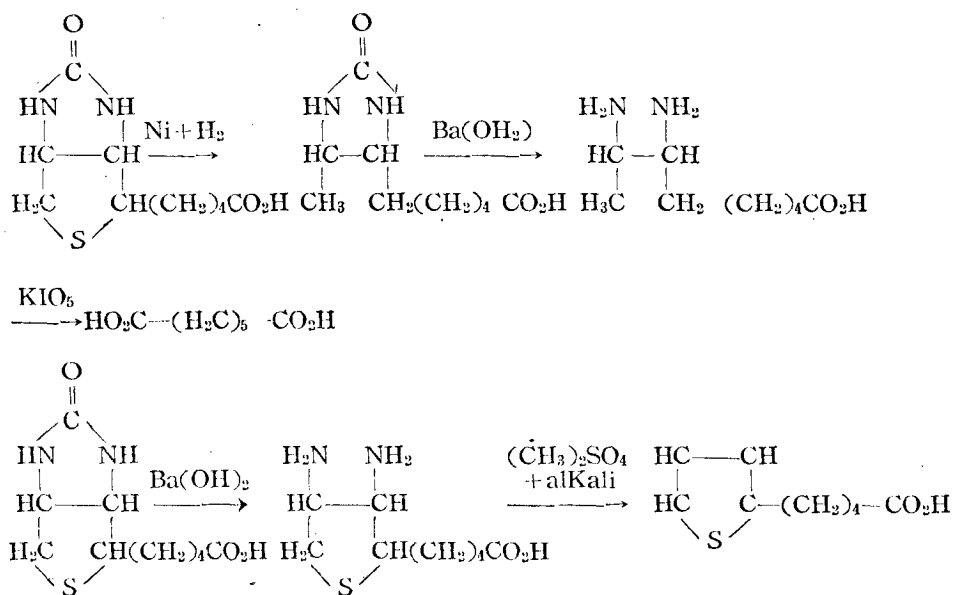
| Nutrient                               | g/cm <sup>3</sup>     | Table 4                                  |                               |                       |                      |
|----------------------------------------|-----------------------|------------------------------------------|-------------------------------|-----------------------|----------------------|
|                                        |                       | Biocatalyst                              | Test organism                 | Minimal concentration | Physiological action |
| Ammonium acetate                       | $6.42 \times 10^{-3}$ | Gamon                                    | Gamet of <i>Chlamydomonas</i> | $2.5 \times 10^{-14}$ | Copulation           |
| $Na_2HPO_4$                            | $1.25 \times \times$  |                                          | Yeast cell                    | $4 \times 10^{-11}$   | Proliferation        |
| $KH_2PO_4$                             | $0.85 \times \times$  | Biotin                                   | Avena coleoptile              | $1 \times 10^{-9}$    | Elongation           |
| $MgSO_4$                               | $0.42 \times \times$  | Auxin-a                                  | Tadpole                       | $5 \times 10^{-9}$    | Metamorphosis        |
| Fe-citrate                             | $4.20 \times 10^{-5}$ | Thyroxin                                 | Frog                          | $2 \times 10^{-7}$    | Dilatation of pupil  |
| $MnCl_2$                               | $1.25 \times \times$  | Adrenalin                                | Yeast cell                    | $1 \times 10^{-5}$    | Proliferation        |
| Glucose                                | $2.00 \times 10^{-2}$ | Inositol                                 |                               |                       |                      |
| l-cysteine-HCl                         | $0.8 \times 10^{-4}$  |                                          |                               |                       |                      |
| $M_2$ thionine                         | $0.5 \times \times$   |                                          |                               |                       |                      |
| Glycocoll                              | $5.0 \times \times$   |                                          |                               |                       |                      |
| Alanine                                | $5.0 \times \times$   | Kögl の研究で常にこの因子が微生物や卵黄のみでなく              |                               |                       |                      |
| Valine                                 | $5.0 \times \times$   | く廣く動植物界に分布していることが知られていたが                 |                               |                       |                      |
| Leucine                                | $2.5 \times \times$   | 米國の du Vigneaud 等は 1941 年になつて肝臓を原料       |                               |                       |                      |
| Isoleucine                             | $1.0 \times \times$   | として比較的大量の Biotin を得ることに成功しその             |                               |                       |                      |
| Phenylalanine                          | $5.0 \times \times$   | 翌年には乳漿からも Biotin の結晶を得た。du Vig-          |                               |                       |                      |
| Tryptophane                            | $1.0 \times \times$   | neaud の二つの Biotin は性質が一致するが Kögl の       |                               |                       |                      |
| Aspartic acid                          | $5.0 \times \times$   | 卵黄 Biotin とは第5表に示すように分子式以外の性             |                               |                       |                      |
| Glutamic acid                          | $5.0 \times \times$   | 質に著しい相異があるので Kögl は卵黄のものを $\alpha$ -     |                               |                       |                      |
| Thiamine-HCl                           | $1.0 \times 10^{-7}$  | Biotin 肝臓のそれを $\beta$ -Biotin として區別した。そ  |                               |                       |                      |
| Pyridoxine-HCl                         | $2.0 \times 10^{-6}$  | して $\beta$ -Biotin については第6表に示す様な方法で構     |                               |                       |                      |
| Adenine-H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | $4.3 \times 10^{-5}$  | 造決定が行われ 2'-Keto-3,4-imidazolido-2-tetra- |                               |                       |                      |
| Biotin methyl ester                    | $2.0 \times 10^{-9}$  |                                          |                               |                       |                      |
| d-Pantothenic acid                     | $6.0 \times 10^{-8}$  |                                          |                               |                       |                      |
| Niacin                                 | $1.7 \times 10^{-5}$  |                                          |                               |                       |                      |

Table 5

|                                                           | $\alpha$ -Biotin      | $\beta$ -Biotin       | hydrothiophene              |
|-----------------------------------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------------|
| Investigators                                             | F. Kögl et al         | V. du Vigneaud et al. | Valeric acid で              |
| Materials                                                 | yolk                  | Liver. whey           | あることが明かと                    |
| Molecular formula                                         | $C_{10}H_{16}O_3N_2S$ | $C_{10}H_{16}O_3H_2S$ | なり, 更に 1943                 |
| M.P.                                                      | [220°]                | [232-233°]            | 年には Harris 等 <sup>17)</sup> |
| $\alpha[\alpha]_D$                                        | +51°                  | +92°                  | によつて l-cysti-               |
| Methylester M.P.                                          | [161-162°]            | [166-167°]            | ne, Glutaric acid           |
| $[\alpha]_D$                                              | +47°                  | +39°                  | 及び, モノクロロ                   |
| Minimal conc. of Biotin for the growth promotion of yeast | $4 \times 10^{-11}$   | $8 \times 10^{-11}$   | 醋酸を原料として                    |

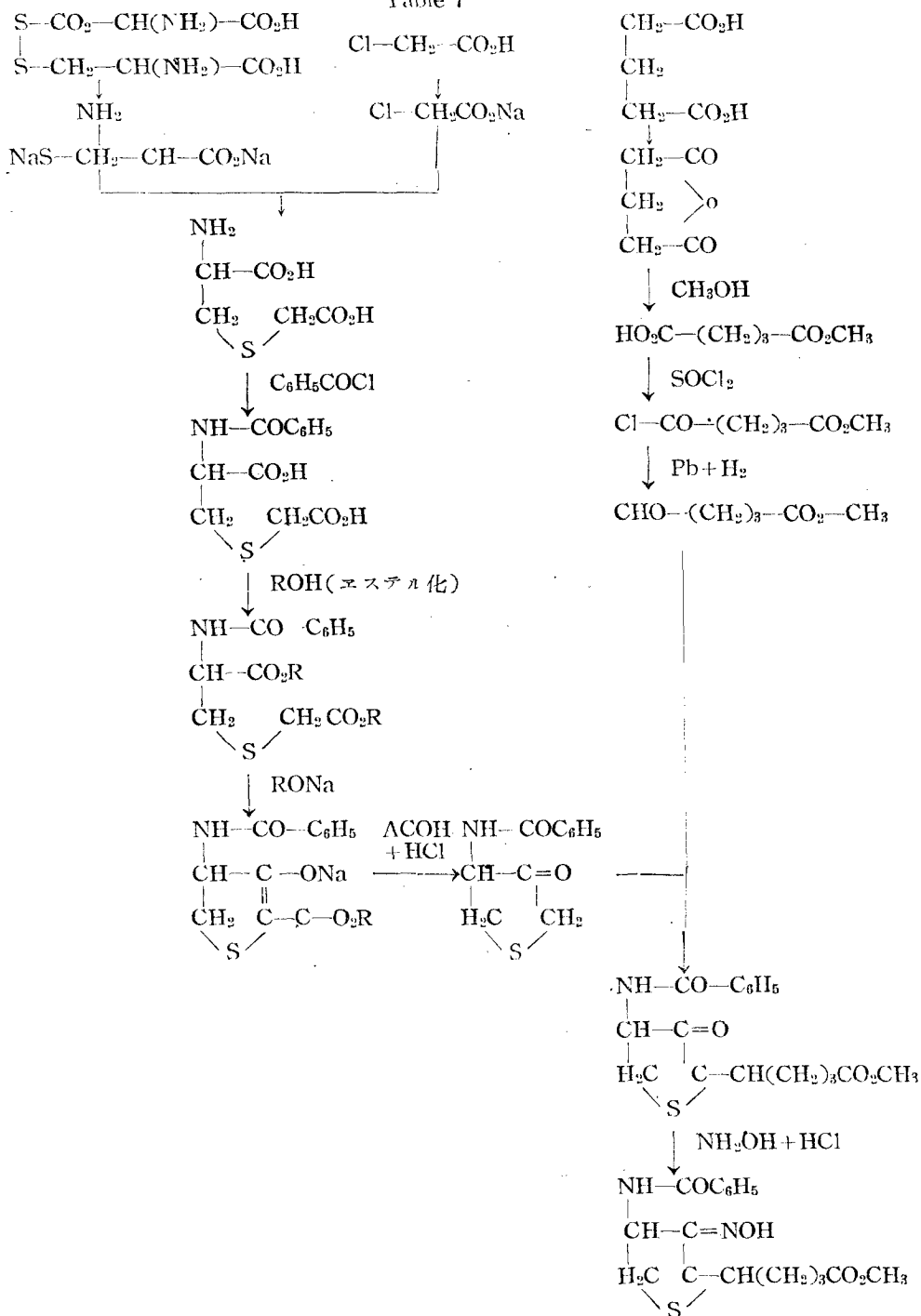
の全合成が成功してこの構造が確認された。この合成に際し 3 個の不斉炭素が生ずるので理論上 8 個の異性体の存在が可能であるが実際には第 8 表に示すように d, l-Biotin, d, l-

Table 6



Allobiotin 及び d,l-Epiallobiotin が得られ、硫酸に対する Ureido 環の安定性から Hydrothiophene 環に対し d,l-Biotin は N が cis 配置に他の二種の対掌体では trans 配置をとることが明かとなつた。但しこの異性体中 Biotin 特有の生理作用が認められるのは d-Biotin のみであるから Kögl の  $\alpha$ -Biotin は全く別個の構造をもつことが予測されるが Kögl は吉草酸側鎖が異なるものとして図の様な構造を與えている。

Table 7



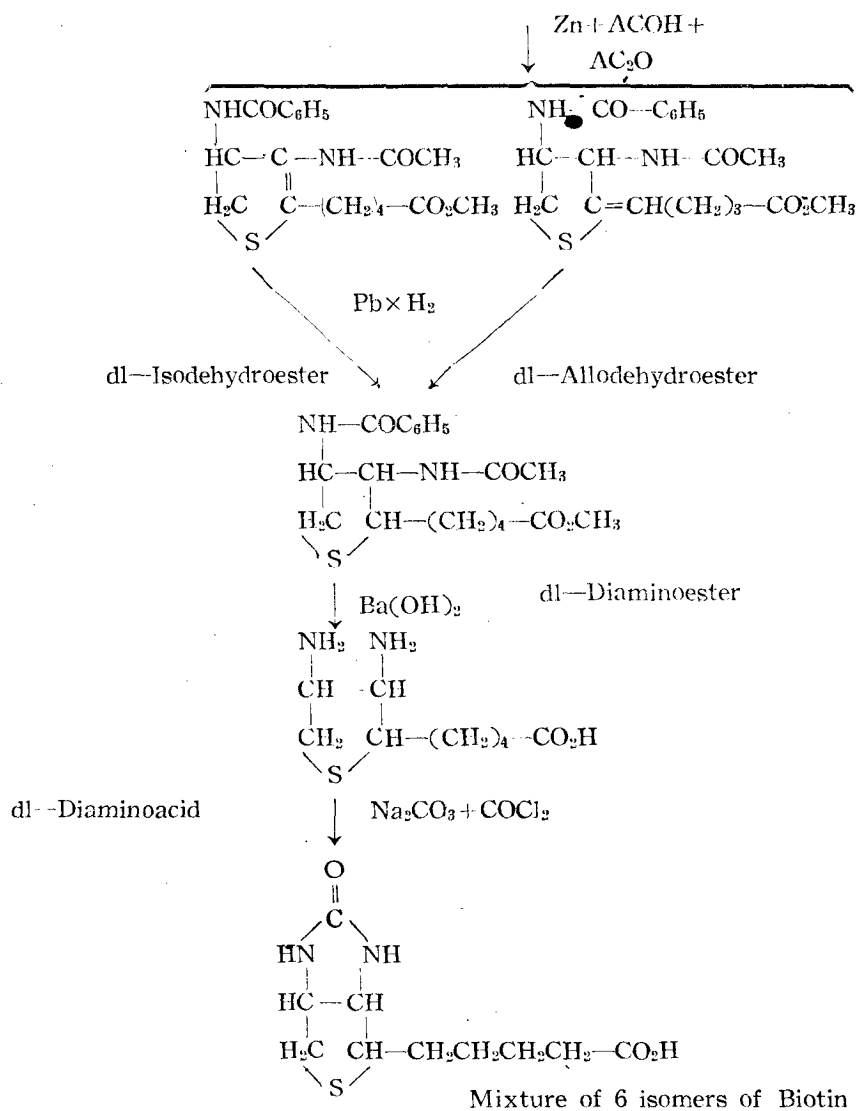
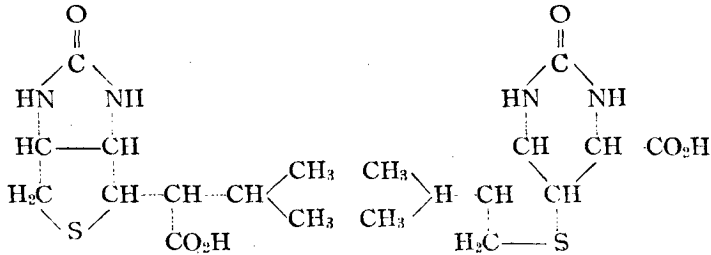


Table 8

| Dehydroester               | Diaminoester                  | Diamino acid                    | Biotin                            |
|----------------------------|-------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|
| dl-Iso—<br>M.P.[185-186°]  | dl—<br>M.P.[155°]             | → dl—<br>M.P.[232°]             | → dl—<br>M.P.[232°]               |
| dl-Allo—<br>M.P.[162-163°] | dl—Alls—<br>M.P.[172-173°]    | → dl—Allo—<br>M.P.[195°]        | → dl—Allo—<br>M.P.[194-196°]      |
|                            | dl—Epiallo—<br>M.p.[185-187°] | → dl—Epiallo—<br>M.P.[189-190°] | → dl—Epiallo—<br>M.P.[195°decomp] |

Assumed structure  
of  $\alpha$ -Biotin



Biotin の生理作用については Kogl は最初彼が発見した高等植物の細胞伸長ホルモンの Auxine に対応して細胞増殖を促進する作用物質の存在を予想して Bios の成分から最も作用の強い物質の単離を企てて Biotin を発見したのであるが、推測通りに細胞分裂の盛んな卵黄や植物種子に特に含量が大きいばかりでなく燕麦甲析のような高等植物の組織では生長の旺盛な芽や根の尖端部に又動物組織では<sup>21)</sup>脳、肝、肺、脾、腎等の臓器に含量が高いことや豌豆

|                  | Total Weight | Biotin content | Biotin unit/g |
|------------------|--------------|----------------|---------------|
| Oats             |              |                |               |
| Coleoptile head  | 170mg        | 150unit        | 870           |
| 〃 middle part    | 400          | 200            | 530           |
| Mesocotyl        | 250          | 140            | 700           |
| Root middle part | 165          | 140            | 840           |
| 〃 head           | 95           | 108            | 1080          |

Table 9 The growth of the embryo of the pea.

|                   |  | Length (m.m) |      | Dry weight(mg) |      |
|-------------------|--|--------------|------|----------------|------|
|                   |  | sprout       | root | sprout         | root |
| Control           |  | 27           | 37.0 | 5.7            | 4.5  |
| Biotin 0.1γ       |  | 39.6         | 39   | 7.2            | 4.4  |
| Thiamine 4γ       |  | 36           | 75   | 6.5            | 6.2  |
| 〃 0.4             |  | 36           | 72   | 6.3            | 6.1  |
| 〃 0.08            |  | 35           | 65   | 6.3            | 5.5  |
| 〃 0.008           |  | 29           | 51   | 5.9            | 5.0  |
| Biotin + Thiamine |  |              |      |                |      |
| 0.2γ 0.2γ         |  | 33.0         | 71   | 6.8            | 6.5  |
| 0.04 0.04         |  | 31.0         | 68   | 6.3            | 5.5  |
| 0.008 0.008       |  | 26.5         | 50   | 5.3            | 5.0  |
| 0.2 2.0           |  | 41.0         | 70   | 8.5            | 6.0  |

の胚芽のみをとつて合成培養液を含むゼラチン上で発芽せしめる際 Biotin 添加では主とし<sup>22)</sup>

て芽の生長が、Thiamine で根の生長が促進されこれらの生長促進物質は正常の種子では胚乳から胚芽へ供給されるものであることなどが明かとされて居り、Biotin が微生物のみでなく高等の動植物にも不可欠の栄養であることが確かとなつた。又動物でも肝瘍のような異常生長をやる組織には含量の多いことが知られ Biotin 缺乏処置による癌治癒なども試みられているがその成果は未確定である。哺乳動物では Biotin 不足が剥落性皮膚炎、皮脂漏、脱毛等の症<sup>84)</sup>で現はれることが、この作用物質と分子化合物を作るためにその吸収を妨げる卵白中の塩基性蛋白質の Avidin<sup>25)</sup>の研究から明かとなり Biotin を Haut Vitamin の意味でビタミンHと呼ぶ所以であるが、Biotin の作用機構については Thiamine, Riboflavine, Pyridoxine, PABA のように明かではなく現在研究が最んに行われつゝある状態にある。その一群の研究は Biotin が窒素代謝と関係のある酵素の助酵素としての働きをするというのであり、例えば Biotin 缺乏酵母は正常のものに比して呼吸能、<sup>23)</sup>醗酵能が10分の1以下に低下し、これに糖と磷酸塩の共存の下に Biotin を與えると急速にアンモニアイオンの吸収が起り新陳代謝能が回復するが生長はその後はじめて促進されるから Biotin の生長促進作用は直接的のものでないと考えられるわけで、ある種の酵母、乳酸菌その他の細菌では Aspartic acid<sup>27)</sup>が Biotin の作用を代用することからアンモニウムイオンから Aspartic acid 合成と關聯する酵素と関係があると考えられている。又その Ureido 環の CO が容易に脱着することと關聯して Oxalacetic acid Decarboxylase のような CO<sub>2</sub> 脱着と関係のある酵素の助酵素であるとする研究がある。生物によつて異なるが含水炭素、アミノ酸、脂肪等の相互変換に Krebs-Breusch, Györgyi, Chibnall<sup>29)</sup> はなどの Cycle が考えられて居り又 Pyridoxine 誘導体を助酵素とする Transaminase<sup>30)</sup>の発見等によつてこれらの Cycle 中の過程の幾つかは証明されようとしているが、Biotin が關係する酵素もこれらの Cycle に重要な役割を演じていると予想される。又哺乳動物の肝臓に於ける尿素合成過程での Ornithine から Citrulline 生成が Biotin 缺乏動物の肝臓では著しく衰えるとの発見は<sup>33)</sup>この物質が別な CO<sub>2</sub> 固定にも関係をもっていることを示すものである。

稻熱病菌が寄主である稻の組織を犯す場合には幾多の特徴が認められ例えば数多い禾本科植物中殆んど稻だけが唯一の寄主となることや、栄養生長から生殖に轉換する穂孕期に屢々大発生のあることや、南方系の稻が殆んど犯されぬことや、窒素肥料の過施、日照不足、晚播晚植等の栽培條件によつて罹病性が高まること等が特徴として挙げられる。これらの罹病性は葉や穂首の Biotin 含量の大小では説明出来ないことが著者等の研究で明かとなつて<sup>31)</sup>いるが、罹病し易い稻の葉に認められる例外なしの特徴は非蛋白態窒素中のアミド化合物を多く含むことである。稻の葉のアミド化合物は Glutamine と Asparagine であり、これらのアミノ酸の Amide は酵母や乳酸菌と異つてこの菌では Biotin の作用を代用せぬから前

Table 10

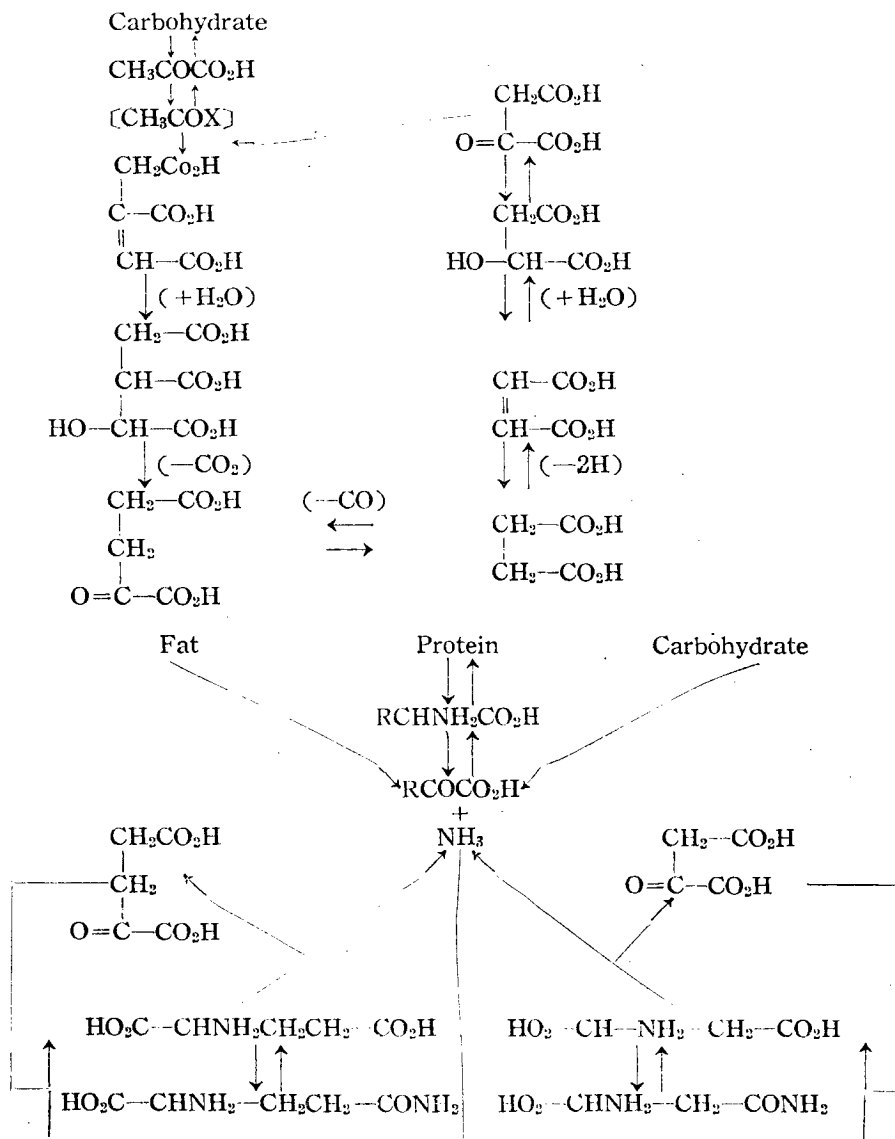


Table 11

A Example of nitrogeous compounds contained in the susceptible leaves of rice to the blast disease

| T.N.                                             | Period of the highest vegetative growth |                                      | End of the vegetative growth |                 | Period of Ear-shooting |                 |
|--------------------------------------------------|-----------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------|-----------------|------------------------|-----------------|
|                                                  | Aikoku (Resistout Variety) 4.07%        | Sojinriki (Susceptive Variety) 3.88% | Aikoku 3.57%                 | Sojinriki 2.71% | Aikoku 2.33%           | Sojinriki 2.04% |
| Protein-N                                        | 92.1                                    | 93.1                                 | 91.4                         | 93.8            | 90.0                   | 92.1            |
| Nonprotein-N                                     | 7.9                                     | 6.9                                  | 8.6                          | 6.2             | 10.0                   | 7.9             |
| a) Non-protein-N precipitated by p-tungstic acid | 46.0                                    | 54.0                                 | 48.5                         | 55.9            | 59.6                   | 58.3            |
| b) 〃 not precipitated                            | 54.0                                    | 46.0                                 | 51.5                         | 44.1            | 40.4                   | 41.7            |
| Amide-N in b)                                    | 3.00                                    | 3.89                                 | 3.42                         | 9.77            | 7.38                   | 15.15           |
| Amino-N in b)                                    | 3.03                                    | 2.96                                 | 3.49                         | 6.24            | 2.55                   | 10.87           |

記の諸研究と別途の作用機構を考えなくてはならない。恐らくは稈熱病菌ではこのアミド窒素を利用して菌の生命活動に必要な窒素化合物を合成する過程に Biotin が関係するものと推測されるので目下鋭意研究をつづけて居り、稈熱病罹病性や菌の病原性の問題などと共に稿を改めて批判を仰ぐつもりである。

#### 文 献

- 1) 枋内吉彦, 北大農学部紀要44 183 (1940)
- 2) 平田榮吉, 未発表
- 3) 田中正三, 香月裕彦, 未発表
- 4) 田中正三, 香月裕彦, 未発表
- 5) L. Pasteur, Ann. chim. phys. [3] 58 323 (1860)
- 6) J.V. Liebig. Ibid. [4] 23 5 (1871).
- 7) E. Wildiers Cellule 18 313 (1901.)
- 8) A. Copping, Bioch. J. 23 1050 (1929)
- 9) R.J. Williams, J. Biol. chem. 38 465 (1919) 外,
- 10) E. Fulmer et al. J. A.C.S. 46 723 (1924) 外,
- 11) E. Eastcott J. phys. chem 32 1094 (1921) 外,
- 12) F. Kögl, Ber. 68 16 (1935), Z. physiol. chem. 242 43 (1936)
- 13) V. du Vigneaud et al. J. Biol. chem. 140 643 (1941). Ibid. 140 763 (1941.)
- 14) V. du Vigneaud et al. Ibid. 142 615 (1942).
- 15) F. Kögl et al. Z. physiol. chem. 279 121 (1943.) 279 140 (1943): 281 65 (1944.)
- 16) K. Hofmann et al. J. Biol. chem. 141 207 (1941), J. A.C.S. 63 3237 (1941), V. du Vigneaud et al. J. Biol. chem. 146 475 (1942).
- D. Melville et al, Ibid. 146 487 (1942).
- 17) S. Harris et al, Science, 97 447 (1943.) J. A. C. S. 66 1756 (1944), 66 1757 (1944), 67 2096 (1945)
- 18) S. Harris et al. J. A. C. S. 66 1800 (1944), 67 2102 (1945)
- 19) F. kögl et al, loc. cit.
- 20) F. Kögl et al, Z. physiol. chem. 243 209 (1936),
- 21) F. Kögl et al. Ibid. 243 189 (1936),
- 22) F. kögl et al. loc. cit.
- 23) F. kögl et al. loc. cit.
- 24) M. Boas. Biochem J. 21 712 (1927), P. Györgyi, J. Biol. chem. 131 733 (1939), 131, 745 (1939), V. Sydenstricker et al, Science 95 176 (1942),
- 25) Pennington et al, J.A.C.S. 64 469 (1942)
- 26) V. du Vigneaud et al, J. Biol. chem. 140 XXI (1941)
- 27) A. Axelrod et al, J. Biol. chem. 176 695 (1948), J. Stokes et al, Ibid. 157 121 (1945), 160 35 (1945), J. Bact. 54 219 (1947)
- 28) W. Shive et al, J. Biol. chem. 169 453 (1947).
- H. Lardy et al, Ibid. 169 451 (1947), H. Lichetein et al, Ibid. 170 329 (1947)
- H. Lardy et al, Ibid. 179 721 (1949),
- 29) H. Krebs et al, Enzymologia 4 148 (1937), F. Breusch, Science 97 460 (1943) 外
- 30) A.V. Szent-Györgyi, Studies on biological Oxidation and some of its Catalysis, (1937)
- 31) A. Chibnall, Protein metabolism in the plant. (1939)
- 32) W. Bellamy. et al, J. Biol. Chem. 160 461 (1945).
- 33) H. Lardy et al, J. Biol. chem. 180 1003 (1949).
- 34) 田中正三, 藤本康夫, 未発表
- 35) 田中正三, 香月文子, 未発表