

氏 名	西 川 善 之
	にし かわ よし ゆき
学位の種類	農 学 博 士
学位記番号	農 博 第 244 号
学位授与の日付	昭 和 51 年 9 月 24 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	農 学 研 究 科 食 品 工 学 専 攻
学位論文題目	STUDIES OF METHYL-XANTHINES FOR RIBOFLAVINOGENESIS IN <i>EREMOTHECIUM ASHBYII</i> (<i>EREMOTHECIUM ASHBYII</i> のリボフラビン生合成に及ぼすメチルキサンチン類の作用機作)

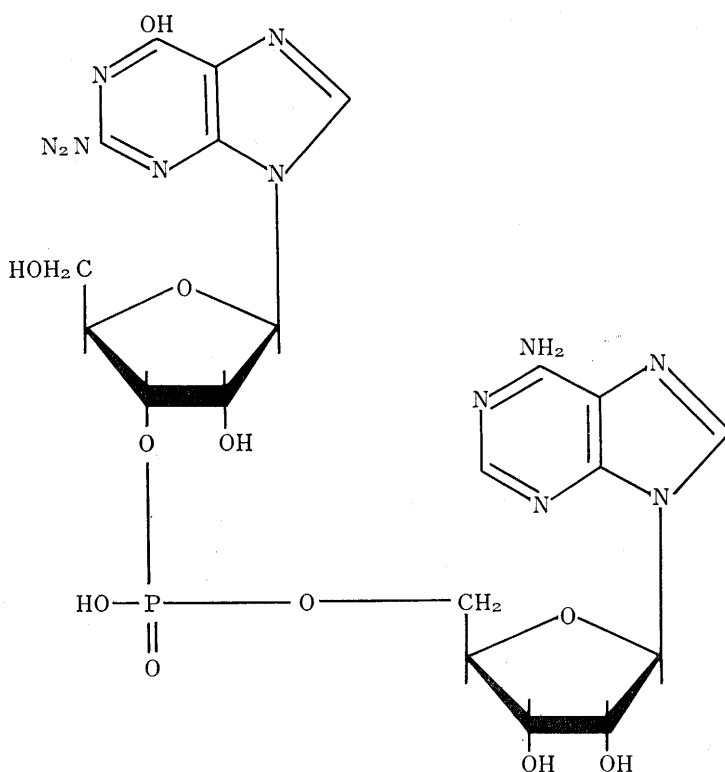
論文調査委員 教 授 満 田 久 輝 教 授 千 葉 英 雄 教 授 岩 井 和 夫

論 文 内 容 の 要 旨

著者は2%グルコース, 1%ペプトン, 0.3%酵母エキス, 0.1%NaCl, 0.2% $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.01% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1.8% Tween 80 からなる基礎天然培地 (pH 5.5) に種々の濃度のキサンチン, テオブロミン, テオフィリン, カフェインを添加, 植菌後, 一定時間培養することにより生育菌体実験を行なっている。カフェイン添加の場合, 菌の生育は3日目までは完全に抑制され, リボフラビンの生産も顕著に阻害されることを見出した。休止菌体実験においてもカフェインの阻害は著しい。リボフラビン生産が阻害されたカフェイン添加, グルコース無添加の条件下で, 低濃度のギ酸溶出画分に未知物質が蓄積する。先ず菌体を大量に得る目的で培養条件を種々検討した結果, 20 l の試薬缶中に 12 l の天然培地および消泡剤を添加し, 28℃, 20時間, 毎分 3~7 l の通気攪拌を行ない, 1,380 g の菌体を得ることに成功し, その菌体を飢餓状態とし, ろ過後カフェイン存在下で休止菌体培養を行なっている。本菌体を過塩素酸にて抽出し, 種々の精製操作を行ない, 6 mg の標品を得ている。構成成分としてグアニン, アデニン, リボース, リン酸が含まれ, グアニンとアデニンのジヌクレオチドであると推定し, さらに塩基成分の配列様式について検討し, アルカリ分解, RNase T₂ の酵素分解により GMP とアデノシンの存在を実証し, その量比が 1:1 であることを見出し, 本 GMP は 3'-GMP と確認している。

さらに phosphodiesterase による酵素分解によっては 5'-AMP およびグアノシンの存在を確認し, 次を示すように guanine ribonucleotidyl-(3'-5')-adenosine (G_pA) であることを明確にし, さらに紫外吸収スペクトル, IR-スペクトルおよび NMR-スペクトルの測定結果から構造の正確であることを実証している。

本 G_pA とリボフラビン生産の関係および本物質の生理的な意義を解明すべく, 菌体内における生成機構を追求している。先ずカフェイン添加, 無添加下における ^{14}C -グアニンの菌体内ヌクレオチド類の挙動を検討した結果, カフェイン添加下においては ^{14}C -グアニンは菌体内ではその 70% 以上がリボフラビン中に転入する一方, GMP 量は無添加の対照に比し減少したのに対し, G_pA および GDP-mannose は



Guanine ribonucleotidyl-(3'-5')-adenosine

増加し、この G_pA 中にもかなり高収率で ¹⁴C-グアニンが転入される事実を確認している。G_pA はこれまで動物、植物、微生物中には見出されていない珍しい化合物である。

本 G_pA 中グアニンヌクレオチドレベルで生合成される可能性を見出し、しかもリボフラビン生合成がグアニンヌクレオチドから行なわれる点より本物質はリボフラビン生合成と密接に関与しているものと推察している。

論文審査の結果の要旨

リボフラビンの生合成と各種プリン塩基との関係を追求したところ、xanthine が直接的前駆物質であり、XMP, GMP を経て GTP となり、さらに 4-ribitylamino-5-amino-2,6-dihydroxypyrimidine を経てリボフラビン直前の前駆物質 6,7-dimethyl-8-ribityllumazine (G-compound) となる。G-compound 2 分子からリボフラビン 1 分子が riboflavin synthetase により生成され、さらに FMN (flavin mononucleotide), FAD (flavin adenine dinucleotide) への生合成、生分解の機構については本学部栄養化学研究室において、すでに詳細に解明されている。著者は高フラビン生産菌 *Eremothecium ashbyii* 黄色、白色両株の生育菌体、休止菌体を用いて、xanthine 誘導体である methyl xanthine 類のリボフラビン生合成に及ぼす作用機構を検討している。カフェインの添加により菌の生育、リボフラビンの生産は顕著に阻害され、この条件下においては菌体内に未知の新しいヌクレオチドが生成蓄積されることを見出した。

この菌体内蓄積物質を検討するため、*E. ashbyii* の大量培養法を検討して得た 1,380 g の菌体から過塩素酸抽出、陰イオン交換カラム、活性炭処理、DEAE-Sephadex A25 カラム等の各クロマトグラフ法を用いて精製し、6 mg の精製標品を得、その構造を guanine ribonucleotidyl-(3'-5')-adenosine (G_pA) と決定した。このヌクレオチドはこれまでに動物、植物、微生物中には見出されていない珍しい興味ある化合物である。ついでその生成機構についても検討している。 G_pA は単なる RNA の分解生成物ではなく、GMP などのヌクレオチドから生成される物質であることを実証し、リボフラビン生合成系と密接に関係した物質と推察している。

以上のように本論文はビタミン学、生化学に寄与するところが大きい。

よって、本論文は農学博士の学位論文として価値あるものと認める。