

氏 名	和 泉 好 計 い ずみ よし かず
学 位 の 種 類	農 学 博 士
学 位 記 番 号	論 農 博 第 606 号
学 位 授 与 の 日 付	昭 和 50 年 9 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	STUDIES ON THE BIOSYNTHETIC PATHWAY OF BIOTIN IN MICROORGANISMS (微生物におけるビオチンの生合成経路に関する研究)

論文調査委員 (主 査) 教 授 緒 方 浩 一 教 授 岩 井 和 夫 教 授 柄 倉 辰 六 郎

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は微生物における biotin の生合成経路および生合成調節機構に関する研究結果をとりまとめたものである。

まず著者は biotin 生合成経路の主要な部分である pimelic acid (PmA) から desthiobiotin (DTB) に至る生合成経路を、種々の細菌を用いて酵素レベルで解明した。すなわち pimelyl-CoA synthetase によって PmA と CoA とから pimelyl-CoA が、つぎに 7-keto-8-amino-pelargonic acid (KAPA) synthetase によって pimelyl-CoA と L-alanine とから KAPA が、7,8-diaminopelargonic acid (DAPA) aminotransferase によって KAPA から DAPA が、最後に ureido ring synthetase によって DAPA と HCO_3^- とから DTB が合成されることを明確にした。これら 4 つの各酵素活性の強い細菌を選び、それぞれの酵素を抽出・精製し、酵素化学的諸性質の検討を行なった。その結果、*Bacillus megaterium* の pimelyl-CoA synthetase は PmA 以外の dicarboxylic acids には作用しない新しい acyl-CoA synthetase の 1 つであること、*B. sphaericus* の KAPA synthetase は acyl-CoA と amino acid とから脱炭酸縮合によって keto-amino acid を合成する特異な pyridoxal phosphate enzyme であること、*Brevibacterium divaricatum* の DAPA aminotransferase は S-adenosyl-L-methionine のみをアミノ基供与体とする全く新しい aminotransferase であること、*Pseudomonas graveolens* の ureido ring synthetase 反応では DAPA 1 モルに対し ATP 1 モルが必須であることなどを明らかにした。さらに PmA からの DTB の生合成調節機構について検討を加え、第 1 段階の pimelyl-CoA synthetase を除く 3 つの酵素が 0.1~0.2 $\mu\text{g/ml}$ の biotin によって強力な repression を受けることを明確にした。

また DTB からの biotin の生成における S 源について *Rhodotorula glutinis* を用いて検討し、ラベルした methionine の S が biotin 分子内にとりこまれることを明らかにした。

つぎに抗生物質 actithiazic acid (ACM) を PmA 含有の培養液に添加して各種微生物を培養すると、biotin の生成量が減少し、逆に DTB の生成量が増加する事実を見出した。これは ACM が DTB から

の biotin の生合成を抑制し、その結果 PmA から DTB までの生合成系に対する biotin の feedback repression が解除されることによるものと結論した。

さらに著者は biotin の新しい前駆体あるいは新しい生合成経路の検索を行なったところ、*Agrobacterium* 属細菌では PmA からではなく glutaric acid から DTB が生成されることを明らかにした。また種々の微生物が、DTB および biotin の側鎖の炭素数が2個少ない bisnordesthiobiotin および bisnorbiotin からそれぞれ DTB および biotin を生合成することを見出した。

論文審査の結果の要旨

アミノ酸醗酵と関連の深いビタミンである biotin の微生物での生合成機構については従来 intact cell, 無細胞抽出液あるいは粗酵素の状態では pimelic acid (PmA) から biotin までの経路が推定されている。

本論文はこの合成系に関与する酵素を精製して、酵素レベルでの合成機構を明確にするとともに、その生合成調節機構を明らかにしたもので微生物における biotin の生合成経路が本研究によってほぼ完成したものと考えられる。

まず PmA が CoA と縮合して活性化される第一段階の酵素の存在は本研究ではじめて指摘され、これを精製して ATP, Mg^{2+} の要求性を明確にした。Pimelyl-CoA と alanine と縮合して 7-keto-8-aminopelargonic acid (KAPA) を生成する酵素は pyridoxal phosphate を要求する B_6 enzyme であること、KAPA から 7,8-diaminopelargonic acid を生成する酵素は S-adenosyl-L-methionine のみをアミノ基供与体とする新しい aminotransferase であることを明確にし、さらに desthiobiotin (DTB) を生成する ureido ring synthetase および DTB からの biotin への S の取りこみについて検討を加えた。

さらに PmA からの DTB の生合成調節機構について検討し、pimelyl-CoA synthetase を除く各段階の酵素が biotin によって強力な repression を受けることを明らかにした。この事実は著者が見出した biotin の antagonist である actithiazic acid を培養中に添加すると DTB が多量に蓄積することおよび微生物によって biotin が多量に蓄積しないことを明確に裏付けるものである。

さらに著者は biotin の新しい前駆体について検討し *Agrobacterium* 属細菌では glutaric acid が前駆体となりうることを、また多くの細菌が bisnordesthiobiotin および bisnorbiotin からそれぞれ DTB および biotin を生合成することを見出した。

以上のように本論文は微生物での biotin の生合成機構について酵素レベルで明確にしたもので多くの新しい知見を加え、微生物生理学、ビタミン学に貢献するところが多い。

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。