

氏 名	井 手 節 い で みさお
学 位 の 種 類	理 学 博 士
学 位 記 番 号	論 理 博 第 353 号
学 位 授 与 の 日 付	昭 和 46 年 5 月 24 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	Cyclic AMP in Bacteria: Biosynthesis and Physiological Role

(微生物の環状AMPに関する研究：とくにその生合成並びに生理的役割について)

論文調査委員	(主 査) 教 授 香 月 裕 彦	教 授 波 多 野 博 行	教 授 由 良 隆
--------	----------------------	---------------	-----------

論 文 内 容 の 要 旨

申請者の論文は3部からなり、微生物における環状 AMP の生合成ならびに生理的役割に関する酵素化学的研究を中心とするものである。

3', 5'-環状 AMP は、はじめ動物組織において発見され、ホルモン作用伝達の仲介を行なう因子と考えられている物質であるが、先に申請者らは本物質が動物のみならず微生物にも存在することをはじめて明らかにした(参考論文 2, 3)。さらにグラム陽性菌ブレヴィバクテリウムの生菌、および無細胞抽出液による環状 AMP の生成をアラニンが顕著に促進することを認め(参考論文 3, 4, 6)、ついで本菌の環状 AMP 生合成を触媒する酵素であるアデニルシクラーゼに対し、ピルビン酸が促進因子となることを予想し、これを確認した(参考論文 6)。

ホルモン制御のない生物における環状 AMP 生合成の機作および本物質の生理的役割は、比較生化学の見地からしてもきわめて重要な問題と考えられる。本研究においてはとくに酵素化学的手法を用いてこれらの問題の解明を試みた。

第1部においてはブレヴィバクテリウム・リクエファシエンスのピルビン酸キナーゼを高度に精製し、調節因子の検討を行なった。その結果、他の多くの生物の同酵素に対して活性化効果がある環状 AMP は本酵素に対しては無効であるが、ATP が顕著に活性化する事実を明らかにした。ATP の効果は可逆的であり、酵素蛋白質をリン酸化することによるものとは考えられない。

第2部においては大腸菌に環状 AMP 合成酵素(アデニルシクラーゼ)の存在することを無細胞系ではじめて明らかにし、本酵素がピルビン酸によって活性化されない事実を示し、細菌のアデニルシクラーゼにピルビン酸依存性、および非依存性の二型が存在することを明らかにした。本酵素はまたオキザロ酢酸およびピリドキサルリン酸によって強く阻害されることを示し、本酵素の活性の調節が阻害因子を介して行なわれる可能性を指摘した。

第3部においては第2部で示唆したような2種のアデニルシクラーゼの存在の可能性に関して21株の細

菌の同酵素について検討した。その結果、活性が認められた10種のうち半分がピルビン酸依存性であった。これらはすべてグラム陽性菌および不定菌に限られ、これに対してピルビン酸非依存性の同酵素はグラム陽性と陰性の両方に認められた。ノカルジアの同酵素についてはさらに若干の酵素化学的検討を行った結果、 Mg^{++} より Mn^{++} をより有効な活性化因子とすること、また2価金属以外には活性化因子が存在しないことなどを明らかにした。

参考論文7および8においては、環状 AMP の分解を触媒する ホスホジエステラーゼをセラチア・マルセッセンスから高度精製し、酵素化学的諸性質を明らかにし、とくにジピコリン酸が本酵素を強く阻害することを示した。

参考論文9, 10, および11は発ガン性物質としてよく知られている 4-ニトロキノリン-1-オキシドとその誘導体の微生物に対する生理作用ならびに分析法に関する研究成果である。

論文審査の結果の要旨

3', 5'-環状 AMP は、はじめ高等動物における諸種のホルモンの生理作用の媒体として認識されたのであるが、このスクレオチドが蛋白合成をはじめ種々の分子レベルにおける生体現象の担い手として、動物に限らず広く各種の生物において重要な働きを有していることが数年来明らかになり、多くの生化学者の注目するところとなっている。本研究はまさにこのような動きのきっかけをつくったものとして先ず注目に値する。プレバクテリウムをはじめ、多くの細菌にこの環状 AMP を合成するアデニルシクラーゼが存在し、そのうち約半数がピルビン酸依存性であることを見出したことは、2つの点で重要な発見と考える。すなわちそのひとつはピルビン酸依存性をはじめとするアデニルシクラーゼの諸性質と細菌の種類との間に関連性があることを確認した点であり、比較生化学上の興味ある知見と言える。また他のひとつはピルビン酸依存性と非依存性のそれぞれの場合における環状 AMP の機能発現機構が異なる可能性を指摘した点である。とくに糖代謝の調節に関して重要な位置に存在するピルビン酸キナーゼの高度精製と酵素化学的解析、ならびに大腸菌およびノカルジアのアデニルシクラーゼの可溶化と部分精製標品についての活性調節機作の研究は、環状 AMP が微生物の代謝調節においていかなる役割を果しているかを今後明らかにしてゆく上にきわめて貴重な知見を提供したものと言えよう。

11編の参考論文は、主論文に含まれる研究遂行の基礎となったもの、環状 AMP の分解の機作に関するもの、および発ガン性物質である 4-ニトロキノリン-1-オキシドの生理作用に関するものを含むが、いずれも申請者が生物化学、有機化学、分子生物学などの広い分野にわたって豊富な知識とすぐれた研究能力をもっていることを示している。

よって、本論文は理学博士の学位論文として価値あるものと認める。