

氏 名	光 木 浩 司 みつぎ こうじ
学 位 の 種 類	農 学 博 士
学 位 記 番 号	論 農 博 第 82 号
学位授与の日付	昭 和 40 年 3 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 Bacterial Phosphorylation of Nucleosides (ヌクレオシド類の細菌によるリン酸化に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 緒 方 浩 一 教 授 満 田 久 輝 教 授 小 野 寺 幸 之 進

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は核酸生合成の系路の中で重要な反応であるヌクレオシド類のヌクレオチド類へのリン酸化，特にリン酸転移反応について，多数の細菌を対象として詳細な研究を行なったものである。

まず細菌におけるヌクレオシドリリン酸転移酵素の分布と細菌の属および種との関係を明らかにしている。すなわち pH4.0～5.0 において26菌属，124菌種，約300菌株の生菌体けん濁液を，イノシンと p-ニトロフェニールリン酸 (p-NPP) に作用せしめ，イノシン酸の生成を調べたところ，*Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Serratia*, *Staphylococcus* 属細菌 (A群) に属する菌株は主に 5'-異性体を，また *Aeromonas*, *Escherichia*, *Aerobacter*, *Proteus*, *Salmonella* 属細菌 (B群) に属する菌株は 3'-または 2'-異性体を生成し，各菌属内では生成するイノシン酸のリン酸結合位置は同一であることを見出した。この性質は培養の条件によって変化するものではなく，各菌個有の性質であり，分類学上の位置と相関性があることを証明している。またこの酵素活性は菌体画分に存在し Cu^{++} , Zn^{++} によって促進され，p-NPP を供与体とする場合は至適 pH が 4.0 付近にあり高収率でイノシンはイノシン酸にリン酸化される。

さらにリン酸供与体として p-NPP 以外の多数のリン酸化合物を調べた結果，芳香族リン酸化合物およびヌクレオチド類が優れていることを認めた。特にヌクレオチド類を供与体とした場合，A群細菌は 5'-異性体を供与体とした時にのみリン酸基を転移し，受容体に相当する 5'-ヌクレオチドを生成し，逆にB群細菌では 3'-および 2'-異性体を供与体とした時にのみ 3'-および 2'-ヌクレオチドを生成することを認め，細菌群と供与体の関係を明らかにした。

これら芳香族リン酸化合物とヌクレオチド類を供与体とした場合を比較すると，リン酸化の位置には変化はないが，前者では至適 pH が 4.0 で不可逆反応であり，後者では至適 pH は中性ないしアルカリ側にあり可逆反応であることを認めている。

さらにリン酸受容体についても詳細に検討を行なっている。すなわち A, B 両群の中から代表株をえら

び各種の天然系プリン、ピリミジン塩基を有するヌクレオシド類ならびにデオキシヌクレオシド類を受容体として p-NPP を供与体として pH 4.0 でリン酸化を行なった。その結果ヌクレオシドの場合には A 群細菌は例外なく 5'-異性体を、B 群細菌は 3'-および 2'-異性体を生成し、デオキシヌクレオシドの場合には A 群細菌は 5'-異性体を、B 群細菌は 3'-異性体のみを生成した。

この傾向は化学的に合成した非天然型ヌクレオシド類の場合も同様であった。

さらに 5'-ヌクレオチドでは B 群細菌によってのみ、3'-または 2'-ヌクレオチドは A 群細菌によってのみそれぞれ 3'-または 2'-位、および 5'-位がリン酸化を受けることを認め、5', 3'-および 5', 2'-位に 2 個のリン酸基を有するアデニール酸を得ている。

論文審査の結果の要旨

1954年 Brawerman および Chargaff は動植物組織中にヌクレオシドリッ酸転移酵素の存在を指摘し、ヌクレオシドはリン酸供与体の存在下に植物酵素では 5'-位に、動物酵素では 2'-または 3'-位にリン酸化されるが、微生物酵素では植物と同様に 5'-位がリン酸化されることを付言しているのみで詳細については不明であった。

本論文は多数の細菌についてこの酵素の分布、分類学上の位置との関連性、リン酸供与体と受容体の関係および工業上の応用などについて広範な研究を行なった結果を取りまとめたものである。

イノシンをヌクレオシドとし、p-ニトロフェニールリン酸 (p-NPP) をリン酸供与体とした場合、多数の細菌に本酵素の存在することを指摘し、特にイノシンのリン酸化される位置によってグラム陰性桿菌の属は 2 群に大別しうることを認めた。すなわち 5'-位をリン酸化する属群 (A 群) と 2'-および 3'-位をリン酸化する属群 (B 群) があり、同一属に属する種ではその性質は変わらないことを明らかにしてグラム陰性桿菌の分類の指標となり得ることを示したことはきわめて意義深い。

リン酸供与体についても詳細な検討を行ない各種芳香族リン酸化合物のみならず天然型の各種ヌクレオチドも良好なリン酸供与体となり、A 群細菌ではヌクレオチドの 5'-異性体を供与体とした時にのみリン酸基を転移し、受容体に相当する 5'-ヌクレオチドを生成し、B 群細菌は 3'-および 2'-異性体を供与体とした時にのみ 3'-および 2'-ヌクレオチドを生成することを見出した。すなわちこのリン酸転移酵素が生体内では上述のような特異性をもってヌクレオチド類のリン酸交換反応を司り、ヌクレオチド合成系に関与していることを明らかにしていることは重要な知見である。

さらにイノシンを受容体とし p-NPP を供与体とし種々の条件を検討することによって約 80% の収量でイノシン酸を得ていることは、最近の研究による微生物の培養中における多量のイノシンの蓄積現象の発見と関連して工業的にも十分利用しうることを示している。

以上細菌のヌクレオシドリッ酸転移酵素を種々の点から検討して得た知見は微生物分類学上、また微生物生理学上大きく貢献するのみならず産業的にも寄与する所がすこぶる多い。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。