

氏 名	三 谷 隆 彦
	み たに たか ひこ
学位の種類	農 学 博 士
学位記番号	農 博 第 248 号
学位授与の日付	昭 和 51 年 11 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 水 産 学 専 攻
学位論文題目	枯草菌の spore coat に関する生化学的研究

論文調査委員 (主 査) 教 授 門 田 元 教 授 池 田 静 徳 教 授 駒 野 徹

論 文 内 容 の 要 旨

細菌胞子の細胞の最外層には強固な層状の硬タンパク質組織である spore coat が存在し、それが胞子の抵抗性発現に大きく寄与していることが知られているが、spore coat タンパク質の化学的性質やその生合成の過程に関しては不明の点が多い。これは spore coat タンパク質の可溶化が困難であることなどの理由によるものである。

本論文は著者が枯草菌の胞子を材料としてその spore coat タンパク質の化学的性質及び生合成過程を明らかにしようと試みた研究の成果をとりまとめたものである。内容の概要は次のとおりである。

1. 各種の試薬を用いて spore coat タンパク質の可溶化を試み、1% Na dodecylbenzenesulfonate (SDS) と 0.1M dithiothreitol (DTT) を含む 0.1M Na borate buffer (pH10) によってその85%以上が可溶化されることを見出した。

2. 可溶化された spore coat タンパク質について Sephadex G-200 ゲルクロマトグラフィー、SDS polyacrylamide ゲル電気泳動、超遠心分析、アミノ酸分析、及びN末端アミノ酸分析等を試み、それがグリシン、セリン、アスパラギン酸及びアラニンをとくに多く含む分子量約14,000の単一タンパク質から成り、そのN末端はセリンであることを明らかにした。

3. spore coat タンパク質の生合成過程と関連させて、栄養増殖期および胞子形成期における細胞の各種アミノ酸に対する取り込み能の変動を調べ、フェニルアラニン、バリンなど多くのアミノ酸では栄養増殖期に取り込み活性が高く、胞子形成期に入るとそれが低下するが、グリシン及びセリンの場合には胞子形成の後期に取り込み活性が特異的に上昇することを明らかにした。またこの時期に取り込まれたグリシンおよびセリンは spore coat に偏在し、以後のタンパク質代謝回転を受けないことを見出した。一方胞子形成能を欠損させた突然変異株ではこのような特異的なグリシンおよびセリンの取り込み上昇は見られなかった。

4. 胞子形成期におけるグリシン及びセリンの供給系を、細胞内における生合成の側面から検討するた

め、グリシン及びセリンの生合成に関与する諸酵素の孢子形成期における変動を詳細に研究し、それらのうち phosphoglycerate dehydrogenase 及び phosphoserine phosphatase の活性は孢子形成の全期間を通じてさほど大きく変動しないが、serine hydroxymethyltransferase の活性は孢子形成の後期に急上昇することを明らかにした。

これらの結果にもとづいて著者は、孢子形成の後期には spore coat タンパク質を生合成するためにその主要構成アミノ酸であるグリシン及びセリンに対する細胞内の需要が急増し、それにともなって細胞外からグリシン及びセリンを取り込む系や細胞内でそれらのアミノ酸を生合成する系の活性が上昇するものと推論した。

論文審査の結果の要旨

枯草菌の孢子にはその細胞の最外層に強固な層状の硬タンパク質組織である spore coat が存在し、それが孢子の抵抗性発現に寄与していることが知られている。しかしながら spore coat タンパク質は可溶化が困難であることなどのためその化学的性質や生合成の過程についてはまだ不明の点が多い。

著者はまず 1% Na dodecylbenzenesulfonate と 0.1M dithiothreitol を含む 0.1M Na borate buffer (pH 10) を用いて比較的温和な条件下で枯草菌孢子の spore coat タンパク質を85%以上可溶化することに成功した。次にこのタンパク質について詳細なタンパク質化学的研究を試み、それがグリシン、セリン、アスパラギン酸及びアラニンをとくに多く含む分子量約14,000の単一タンパク質から成り、そのN末端はセリンであることを初めて明らかにした。

著者はさらに、spore coat タンパク質の生合成過程と関連させて、栄養増殖期及び孢子形成期における細胞の各種アミノ酸に対する取り込み能の変動を調べ、フェニルアラニン、バリンなど多くのアミノ酸では栄養増殖期に取り込み活性が高く、孢子形成期に入るとそれが低下するが、グリシン及びセリンの場合には孢子形成の後期に取り込み活性が特異的に上昇することを明らかにした。またこの時期に取り込まれたグリシン及びセリンは spore coat に偏在することをも見出している。

次にグリシン及びセリンの生合成に関与する諸酵素の孢子形成期における変動について詳しい生化学的研究を試み、それらのうち phosphoglycerate dehydrogenase 及び phosphoserine phosphatase の活性は孢子形成の全期間を通じてさほど大きく変動しないが、serine hydroxymethyltransferase の活性は孢子形成の後期に急上昇することを明らかにした。

これらの結果から著者は、孢子形成の後期には spore coat タンパク質を生合成するためにその主要構成アミノ酸であるグリシン及びセリンに対する細胞内の需要が急増し、それにともなって外部からグリシン及びセリンを取り込む系や細胞内でそれらのアミノ酸を生合成する系の活性が上昇するものと推論している。

以上のように本論文は枯草菌孢子の spore coat タンパク質の化学的性質及びその生合成過程に関して多くの新知見を加えたもので、微生物生理学の進歩に貢献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。