

氏 名	佐 藤 一 精 さ とう かず よし
学 位 の 種 類	工 学 博 士
学 位 記 番 号	工 博 第 228 号
学位授与の日付	昭 和 45 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	工 学 研 究 科 工 業 化 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	Studies on the Corrinooids and Porphyrins in Streptomyces (放線菌におけるコリノイドとポルフィリンに関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 福 井 三 郎 教 授 穴 戸 圭 一 教 授 野 崎 一

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、*Streptomyces olivaceus* 605 におけるコリノイド（ビタミン B_{12} 類の総称）とポルフィリンに関する研究をまとめ、2 編 6 章から成る本論および緒論と総括を含んでいる。放線菌（*Streptomyces*）は、ストレプトマイシンなどの各種抗生物質を生産する菌として有名であるがかなりの量のビタミン B_{12} を作ることでよく知られており、1948 年放線菌からストレプトマイシン醗酵生産の際の副産物として単離されて以来、放線菌による B_{12} 醗酵生産についての研究は数多くなされている。しかしながら、この菌における B_{12} の役割についての研究は、従来全くなされていない。本論文は、 B_{12} 生産菌である *Streptomyces olivaceus* 605 における B_{12} の生合成と B_{12} 関与の酵素系を解明することを主要点とし、かつ B_{12} と途中まで共通の前駆体から生成することが知られているポルフィリンの生合成を B_{12} 生合成と関連させて調べて、両者の調節機構を解明しようとしたものである。

第 1 編では、放線菌におけるコリノイド化合物の型とその役割を調べた。第 1 章では B_{12} が関与する酵素反応を知るためまず B_{12} の型を明らかにしようとしている。すなわち B_{12} 生産に適するグルコース・ラクトース培地を用いて、かなり長時間培養して得た菌体から B_{12} 体を抽出単離して検討し、5, 6-ジメチルベンズイミダゾリルコバミド補酵素（DBCC）が主要なものとして存在していることを明らかにした。

第 2 章では、培養のかなり初期で DBCC の下方配位子が存しないコペンアミド補酵素（CC）と B_{12} の上方配位子がメチル基であるメチル B_{12} も作ることを見出した。コバルトの添加量が極めて微量のとき CC は B_{12} 生合成の前駆体であるにもかかわらず培養の極めて初期の段階でもほとんど検出されず、メチル B_{12} や DBCC の割合が大部分を占め、培養後期に近づくにつれてメチル B_{12} の生成量は減少し DBCC の割合が増加した。このことから Me- B_{12} が *S. olivaceus* の代謝において重要な役割を演じていると推定され、DBCC は少なくとも一部は B_{12} の貯蔵のための形態であるものと推定した。

第 3 章では第 2 章の結果から B_{12} 関与のメチオニン合成系を想定しその証明を行なった。又、生成したメチオニンは、 B_{12} や抗生物質、例えばマイトマイシン、テトラサイクリンなどメチル基を持つ抗生物質

のメチル供与体として利用されると推定した。

第2編では、*S. olivaceus* におけるコリノイド生成とポルフィリン生成の間の関係について検討している。

第1章では、培地中に蓄積するポルフィリンが、コリノイドと同じ側鎖配列をしているコプロポルフィリンⅢと同定した。

第2章では、ビタミン B_{12} やヘムなどの最終生成物の添加培養で、途中まで共通の前駆体から生成するコリノイドやポルフィリンの生合成に影響が及び、 B_{12} やその関連化合物の添加では、コリノイド生成が抑制され、ポルフィリン蓄積が増加することを見出した。このような効果は、これらテトラピロール化合物の生合成経路中で重要な役割を演じる δ -アミノレブリン酸(δ -ALA)の脱水酵素の活性に対しても認められ、 B_{12} やポルフィリンの生合成の調節に δ -ALA 脱水反応の段階の酵素系が重要な役目を持つことが示された。又、ポルフィリンが多量に蓄積する条件下では、 δ -ALA 脱水酵素とウロポルフィリン生成酵素とが、複合体を形成していることを認め、これが最終生成物による調節を受けにくいことを見出した。

第3章では、この複合体様化合物に赤色色素が含まれそれがコリノイドの中心原子のコバルトが欠除した Co-free B_{12} であることを明らかにし、コリノイド生成菌におけるこの種の化合物の存在をはじめて証明した。このものの存在により上記の複合酵素系が形成され易くなり、コリノイドの前駆体が十分量存在するとき、前駆体の流れをポルフィリンの方へ流すのを容易にすると論じた。

論文審査の結果の要旨

この論文はビタミン B_{12} 生合成能の高い *Streptomyces olivaceus* 605 におけるコリノイド(ビタミン B_{12} 群化合物の総称)とポルフィリン系化合物の生合成間の相互関係と、この菌におけるビタミン B_{12} の役割について研究した結果をまとめている。得られた成果の主なものは次の通りである。

(1) *Streptomyces olivaceus* 605 を B_{12} 生産に適するグルコース・ラクトース培地を用いて最大増殖に達する少し手前で培養を停止し、菌体中の B_{12} の型を種々の方法で調べて大部分が5,6-ジメチルベンズイミダゾリル・コバミド補酵素であることを証明した。つぎに培養経過を追って B_{12} 生成と型を調べた結果、培養のかなり初期では DBCC の下方配位子が欠けたコビンアミドの補酵素型(CC)と B_{12} の上方配位子がメチル基であるメチル B_{12} の存在が認められた。この事実はこの菌における B_{12} 関与のメチル基転移反応系の存在を示唆し、また DBCC の生合成経過に情報を与えたものである。

(2) *Streptomyces olivaceus* 605 の菌体中に B_{12} 関与のメチオニン生合成系の存在することを証明し、その最終段階を触媒する N^5 -メチルテトラヒドロ葉酸-ホモシスチンメチルトランスフェラーゼを部分精製し酵素学的性質を調べた。この酵素は通性嫌気性菌では大腸菌のものについての詳細な研究があるが、放線菌のような好気性菌で、しかも B_{12} 合成力をもつ微生物では従来見るべき研究がなかったものである。

(3) *Streptomyces olivaceus* 605 を用いて、生合成経路の前半部が共通するコリノイドとポルフィリンの生合成の相互関係について興味深い結果を得た。すなわち、培地にあらかじめ B_{12} や B_{12} 関与のメチル基転移反応の最終生成物であるメチオニンを添加しておくこととコリノイドの生成が抑制され、ヘムを添加

しておくとはム生合成の中間体であるコプロポリリンⅢなどが蓄積し、最終生成物阻害現象が起こることが認められた。

(4) 上記の現象をより詳細に調べる目的で、コリノイドやポリリンの生合成経路で重要な役割を演じる δ -アミノレブリン酸(δ -ALA)脱水酵素における代謝調節機構について研究した。その結果、ポリリン系化合物の生合成経路が優勢な条件で得られた菌体からは、 δ -ALA脱水酵素とウロポリリン生成酵素が未知の赤色色素と複合体を形成し、ムによるフィードバック阻害がかからない状態となっていることを示した。

(5) この未知色素を分離し、種々の性質から B_{12} の生合成中間体であるコビリン酸で、コバルトを含まない構造をもつことを証明した。

以上要するに、本論文は放線菌におけるテトラピロール系化合物の生合成における代謝調節現象につき、 δ -ALA脱水酵素を中心として詳細に調べ、 B_{12} の工業的生産につき情報を与えるとともに、 B_{12} の生合成および生化学的役割について新しい情報を与えたもので、学術上および工業上寄与するところが少なくない。

よって、本論文は工学博士の学位論文として価値あるものと認める。