

氏 名	廣 石 伸 互 ひろ いし しん ひと
学位の種類	農 学 博 士
学位記番号	農 博 第 332 号
学位授与の日付	昭 和 56 年 1 月 23 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	枯草菌の孢子形成期におけるシスタチオナーゼの変動に関する研究

論文調査委員 (主 査) 教 授 門 田 元 教 授 池 田 静 徳 教 授 山 田 秀 明

論 文 内 容 の 要 旨

細菌孢子の外殻には特有の組織である spore coat が存在し、孢子の耐熱性や薬剤抵抗性に寄与している。この組織はシスチン、グリシンなどに富むケラチン類似の硬タンパク質からできており、孢子の全重量の50%近くを占めることがある。一方、栄養細胞中には、含硫アミノ酸としてシスチンまたはシステインは少なく、メチオニンが多く含まれている。この事実は、栄養細胞から孢子が形成されるさいに、細胞内でタンパク質のターンオーバーが起り、それに伴って含硫アミノ酸の代謝系に変化が生じることを示唆している。

本論文の著者は枯草菌を材料として、孢子形成期にとくに顕著な変動を示すシスタチオナーゼをとり上げ、その性質及び挙動を詳しく調べることによって、細胞内における含硫アミノ酸の代謝変動及びタンパク質のターンオーバーと孢子形成との関係を解析した。

まず、枯草菌の細胞からシスタチオナーゼを抽出、精製してその性質を詳細に検討し、この菌のシスタチオナーゼには基質特異性の高いⅠ型とその低いⅡ型とが存在することを見出した。つぎに、両者のうち菌体内での活性の大きいシスタチオナーゼⅡについて、その活性が孢子形成のさいにどのように調節されるかを細胞内プロテアーゼの消長と関連させて検討した。その結果、シスタチオナーゼⅡの持つシスタニオンβ分解活性は孢子形成の進行に伴って低下するが、その過程にはアゾカゼインを分解する分子量約40,000のセリン酵素であるプロテアーゼBが関与すること、及びシスタチオナーゼⅡはその補酵素であるpyridoxal 5'-phosphate (PLP) の存在下ではプロテアーゼBに対して安定であるが、孢子形成に伴ってPLPの細胞内濃度が低下すると、プロテアーゼBによって分解されるようになることが明らかになった。さらに著者は、細胞内におけるPLPの濃度は孢子形成期に生産されるアルカリ性ホスファターゼによって調節されることを孢子形成能欠損変異株などを用いて明らかにした。

これらの結果から著者は、孢子形成期におけるシスタチオナーゼⅡの活性の調節は次のメカニズムによるものとした。すなわち孢子形成の初期にまずアルカリ性ホスファターゼが細胞内で生産され、PLPを分解する。その結果細胞内のPLPの量が減少すると、シスタチオナーゼⅡはプロテアーゼに対する抵抗

性を失い、プロテアーゼBに分解されるようになる。このようにしてシステインからメチオニンへの代謝系に関与するシスタチオナーゼⅡの活性は孢子形成期になると低下するが、一方システイン合成酵素の活性は孢子形成期に入っても変化しないため、結果として細胞内でのシステインの量が増加するものと結論した。

著者はまた、プロテアーゼB欠損変異株と野生株とについてタンパク質のターンオーバー速度や孢子形成率などを比較検討することによって、プロテアーゼBは孢子形成期における細胞内での一般的なタンパク質のターンオーバーにも関与し、栄養細胞中のタンパク質を分解して、孢子に特有のタンパク質の合成に必要な素材を供給する役割を果していることを明らかにした。

論文審査の結果の要旨

細菌孢子の強い耐熱性や薬剤抵抗性は孢子の外殻を構成する特有の組織である spore coat によるところが大きい。この組織はケラチン類似の硬タンパク質からできており、シスチンの含有量が比較的高いのがその特徴である。一方栄養細胞中には、含硫アミノ酸としてシスチンまたはシステインは少なく、メチオニンが多く含まれている。

上記の事実を背景として本論文の著者は、細菌の栄養細胞から孢子が形成されるさいに細胞内でタンパク質のターンオーバーが起り、それに伴って含硫アミノ酸の代謝系に変化が生じるものと考え、その調節機構を孢子の形成機構と関連させて解析した。

すなわち、枯草菌を材料とし、含硫アミノ酸の代謝経路に関与する酵素のうち、孢子形成期にとくに顕著な活性変動を示すシスタチオナーゼと、タンパク質のターンオーバーに関与する細胞内プロテアーゼとの関係が栄養細胞から孢子への移行に伴ってどのように変化するかを、種々の酵素欠損変異株などを利用して詳細に検討した。

得られた結果の主なものは次の通りである。(1)枯草菌のシスタチオナーゼには基質特異性の高いⅠ型とそれの低いⅡ型とが存在するが、細胞内での活性はⅡ型の方が大きい。(2)シスタチオナーゼⅡのシスタチオニンβ分解活性は孢子形成の進行に伴って低下するが、その過程にはアゾカゼインを分解するセリン酵素であるプロテアーゼBが関与する。(3)シスタチオナーゼⅡはその補酵素である pyridoxal 5'-phosphate (PLP) の存在下ではプロテアーゼBに対して安定であるが、孢子形成に伴って細胞内での PLP の濃度が低下するとプロテアーゼBによって分解されるようになる。(4)細胞内における PLP の濃度は孢子形成期に生産されるアルカリ性ホスファターゼによって調節される。

これらの結果から著者は、細胞内でのシスタチオナーゼⅡをめぐる一連の調節が次の順序で行われるものとした。すなわち、孢子形成の初期に細胞内でまずアルカリ性ホスファターゼが生産され、PLP を分解する。その結果シスタチオナーゼⅡはプロテアーゼBに分解されるようになる。このようにしてシステインからメチオニンへの代謝系に関与するシスタチオナーゼⅡの活性は孢子形成期になると低下するが、システイン合成酵素の活性は孢子形成期に入っても変化しないため、結果として細胞内でのシステインの量が孢子への移行時には増加するものと結論した。さらに著者はプロテアーゼBが孢子形成期における細胞内での一般的なタンパク質のターンオーバーにも関与していることなどを明らかにしている。

以上のように、本論文は spore coat タンパク質合成の前提としての含硫アミノ酸の代謝調節機構を明らかにすることによって、細菌の胞子形成機構の解明に新しい手掛りを与えたものであって、微生物生理学に寄与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。