

氏 名	上 原 悌 次 郎 うえ はら てい じ ろう
学 位 の 種 類	理 学 博 士
学 位 記 番 号	論 理 博 第 277 号
学 位 授 与 の 日 付	昭 昭 44 年 9 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	Studies on Pyruvate Oxidation and Related Metabolism in <i>Streptococcus faecalis</i>

(ストレプトコッカス・フェカリスにおけるピルビン酸の酸化と
それに関連する代謝に関する研究)

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

本論文は通性ホモ乳酸菌の一種である *Streptococcus faecalis* のピルビン酸脱水素反応の意義(第一部)とエタノール利用経路を明らかにしたもの(第二部)で、二部から成り立っている。

本菌は、嫌気条件下で多量の乳酸を生成するので、本菌のピルビン酸脱水素反応の生理的意義については、十分な理解がなされていなかった。第一部は、菌の生長や、無細胞抽出液におけるピルビン酸脱水素反応に対するプロピオン酸の阻害とリポ酸による回復現象をとり上げ、これを追求した結果、ピルビン酸脱水素反応の生理的意義を明らかにしたものである。本菌の生長はプロピオン酸により著しく阻害されるが、これにリポ酸またはパルミチン酸やオレイン酸などの高級脂肪酸を加えると、阻害は回復することが認められた。さらに、培地からビオチンを除くと、リポ酸の増殖効果は減少し、炭酸水素ナトリウムを加えると、リポ酸の効果は増強された。一方、無細胞抽出液にリポ酸およびCoAの他に、水素受容体としてネオテトラゾリウムを加えるとピルビン酸脱水素酵素活性が見られるが、これにプロピオン酸、さらにプロピオニル燐酸を加えると著しい阻害が認められた。

以上の事実から、ピルビン酸は、脱水素反応を受けてアセチル CoA となり、これが脂質の合成に導かれ、菌の増殖に資するものであると推論された。事実、2-¹⁴C-ピルビン酸を菌に与えると、¹⁴CO₂ の生成は認められず、ピルビン酸が TCA サイクルを経て酸化されるものではないことがわかり、上の推定が正しいことが証明された。

以上のように、脂質生合成が本菌の成長に密接な関係を有することが示唆されたが、第二部においては、エタノールが脂質合成源としてよく利用されることが証明された。すなわち、ある条件の下ではエタノールは著しい生長促進力をもつことが観察されたが、事実、1-¹⁴C-エタノールを用いて菌を培養すると、細胞に取りこまれた放射能の大部分は、脂質画分に存在することがわかった。これらの事実から、脂質の生合成経路の推定を行ない、エタノール培地で生育した菌からNAD要求性のアルコール脱水素酵素および、NADおよびCoAを要求するアルデヒド脱水素酵素を証明することに成功した。したがって、こ

ことから、エタノールは、脱水素され、アセトアルデヒドとなり、次いで CoA 存在下に再び脱水素されてアセチル CoA となり、脂質に合成されることが結論された。

さらに興味深いことに、アルデヒド脱水素酵素は、エタノールを含まない培地に生育した菌からは検出されず、エタノールを加えることにより本酵素が誘導される事実が認められた。逆に、酢酸を加えると、本酵素の合成は抑制を受け、本酵素の生成は酢酸代謝と密接な関係にあることが推論された。

参考論文18編中、5編は、本菌の生長因子やピルビン酸酸化系およびこれに関連する研究を扱ったものであり、主論文の基礎をなすものである。また、5編は、リポ酸の定量法ならびにこれに関連した研究を扱ったものである。その他の8編は、麴菌の栄養学的研究やサイアミンに関する研究を扱ったものである。

論文審査の結果の要旨

Streptococcus faecalis は乳酸生産菌として著名であるにもかかわらず、その代謝経路に関しては未知の点が少なくなかった。本菌は嫌気条件の下で糖を分解し多量の乳酸を生成するので、TCAサイクルのはたらきは重要なものと考えられておらず、したがって本菌におけるピルビン酸の脱水素反応の意義についても理解し難い点があった。

申請者は本菌の生長や本菌を用いてのリポ酸定量に関する多くの基礎研究を行なって来たが、主論文第一部において、ピルビン酸脱水素反応に注目した。まずこの方法として本菌の生長がプロピオン酸により強く阻害される事実をとり上げ、リポ酸および高級脂肪酸がこの阻害を打ち消すことを発見した。以上の事実を説明するために、プロピオン酸がピルビン酸脱水素反応を阻害する可能性を考え、無細胞抽出液を用いて実験を進めた。その結果、プロピオン酸から導かれるプロピオニル-CoAがピルビン酸からアセチル-CoAに至る過程を阻害するとの結論に達した。これを証明するため 2-¹⁴C-ピルビン酸を菌に与えた結果、放射能は CO₂ 中には存在しなかったので、ピルビン酸は脱水素反応を受けた後、アセチル-CoA となり TCAサイクルを経過せずに脂質生合成に利用されるという重要な知見に到達することができた。

第二部においては、申請者はアルコールが菌の生長を促進する事実に基づき、¹⁴C-エタノールを用いて実験した結果、放射能の大部分は脂質にとりこまれるという事実をつきとめた。これから脂質生合成に至る経路を推定し、菌からアルコール脱水素酵素およびアルデヒド脱水素酵素の存在を証明することができた。それまでは両酵素とも本菌からは報告されておらず、とくに後者は乳酸菌一般について最初の発見とされている。この結果、エタノールは両酵素の作用を受けてアセトアルデヒドを経てアセチル-CoAとなり脂質生合成に利用されることが明らかになった。しかも興味深いことにアルデヒド脱水素酵素の量は培養条件によって調節を受け、エタノールにより誘導され、酢酸により抑制されるという事実が発見された。この事実は両酵素の生理的意義を示唆させる重要な知見ということができる。

以上二編の主論文を通じて、申請者は菌の生長に関する基礎研究から出発して、独特な方法で研究を進展させ、乳酸菌の未知の代謝系を解明したものである。

参考論文は大部分が主論文の基礎をなす研究に関するものであり、その他の論文もビタミンや栄養学に関するもので、いずれも価値の高い研究である。

以上を総合し、本論文は理学博士の学位論文として価値があるものと認める。