

氏 名	山 崎 哲 雄 やま さき あき お
学 位 の 種 類	工 学 博 士
学 位 記 番 号	工 博 第 489 号
学位授与の日付	昭 和 52 年 3 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	工 学 研 究 科 工 業 化 学 専 攻
学位論文題目	Studies on Pyruvate Dehydrogenation and its Related Metabolism in the Homo-Lactic Acid Bacterium : <i>Streptococcus faecalis</i> (ホモ乳酸菌, ストレプトコッカス フェカーリスに於けるピルビン酸脱水素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 福 井 三 郎 教 授 河 西 三 省 教 授 松 浦 輝 男

論 文 内 容 の 要 旨

生体中ではピルビン酸はアセチル CoA を通って、一方では脂質合成、一方ではクエン酸回路に入ってエネルギー生産等を使用されるが、この事実から示されるようにピルビン酸からアセチル CoA の生成を司る反応であるピルビン酸酸化系は生体にとって、非常に重要な役割を担っている。

一部の細菌、例えば大腸菌では3種類のピルビン酸酸化系の存在が知られているが、生育環境に応じたこれらの系間の調節機構に関してはほとんど解明されていない。この研究が進んでいない理由として、大腸菌のような栄養要求性の低い細菌では、上記の系の各々が欠けた突然変異株を分離することがきわめて困難であるためであると考えられる。本論文では、栄養要求性の非常に高い菌である乳酸菌の一種を使用し、増殖が完全にピルビン酸酸化系に依存する条件を設定し、その増殖条件を利用して突然変異株を分離し、ピルビン酸酸化に関する複数の酵素系の相互関係を詳細に調べ、その生理的意義に知見を与える研究を取り扱ったものである。

第1章では、本菌の増殖にとり、脂質の生合成が不可欠な培地条件を設定し、増殖に対する酢酸やリボ酸の効果から、脂質欠乏培地では本菌の増殖がピルビン酸酸化系に完全に依存している事を明らかにした。

第2章では、レダクトン類や Fe^{2+} の本菌の増殖に対する効果から、低濃度の過酸化水素に弱いピルビン酸酸化系の存在を指摘し、更に培地に加えられたフマル酸が生体内で水素受容体として働いて過酸化水素の生成を阻止することにより、過酸化水素に弱いピルビン酸酸化系の働きを可能ならしめることを証明した。

第3章では、本菌における過酸化水素の生成要因を検討し、増殖初期に過酸化水素が蓄積することを証明した。

第4章では、以上の様な培地条件を利用して、ピルビン酸酸化に関する突然変異株の分離を試みた。その結果、多数の変異株を分離し得たが、これらは基本的に3群に分類できた。その(1)はリボ酸にのみ増殖

が依存し、かつそのピルビン酸酸化系がリポ酸依存ピルビン酸脱水素複合酵素(PDH complex と称する) だけであるグループ、(2)は生育させる場合、炭素源をガラクトースにした場合にのみ生成させるピルビン酸ギ酸リアーゼをもつグループ、(3)は新しいピルビン酸酸化系で、リポ酸に依存しないピルビン酸の酸化的脱炭酸を触媒する酵素系をもつグループであった。後者の2つのグループが増殖するためにはアスコルビン酸のような還元性物質の存在が必要であることを示した。

第5章では、以上の様な突然変異株を利用して、これら3つのピルビン酸酸化系において、相互に依存した調節機構が存在する事実を証明した。

第6章では、PDH complex の生合成と不活化に関する別の調節現象の存在することを示した。その一つは、還元力の強い物質が培地中に存在する場合には、その合成が抑制されること、他の一つは PDH complex に特有のタン白質性阻害物質が存在することを示した。この阻害物質は、PDH complex の各々の酵素に対しては阻害効果を示さないことから、酵素複合体間の4次構造に影響を与えてその活性を失わせるものと推定された。

論文審査の結果の要旨

生体におけるピルビン酸の酸化(脱水素)は、糖分解系と脂質・アミノ酸などの生体成分の生合成系やエネルギー生産系を結ぶ重要な過程である。ピルビン酸の酸化に関与する酵素系としてはチアミンニリン酸、リポ酸、FAD を補酵素とするピルビン酸脱水素複合酵素(PDH complex) が代表的であるが、その他にもいくつかのものが知られており、1つの生物においてこれらの酵素間の環境に応じた調節機構が存在することが推定されるにかかわらず、これまでのところ見るべき研究に乏しい。

本論文は複雑な栄養要求性を示しリポ酸の微生物定量菌として用いられるホモ乳酸菌 *Streptococcus faecalis* 10C1 を用いて、この問題について種々の興味深い知見を得た成績を記述している。主要な成果を以下に示す。

(1) 本細菌の増殖が、脂質の生合成の出発物質となるアセチル CoA を生成するための PDH complex の作動に完全に依存する培地組成を設定した。即ち、本条件でこの細菌が増殖するためには PDH complex を活性化するためのリポ酸の添加か脂質関連物質の添加が必須である。

(2) 上記の条件で、培地に還元性物質のレダクトン類や Fe^{2+} を添加するか、厳密な嫌気条件に保つと、リポ酸や脂質関連物質を補足することなしに菌の増殖が可能となることを発見し、この場合には PDH complex の代りに過酸化水素により容易に不活化される他のピルビン酸酸化(脱水素)酵素が働くことを示した。

(3) *Streptococcus faecalis* 10C1 のピルビン酸酸化に関し、(A)リポ酸を必須栄養因子として要求しピルビン酸酸化が PDH complex のみによって営まれる群、(B)ピルビン酸ギ酸リアーゼを持ち、培地の炭素源をグルコースにかえてガラクトースとした場合、この酵素によりピルビン酸を分解利用する群、(C)リポ酸に依存しないピルビン酸の酸化的脱炭酸を触媒する酵素を持つ群の3群の人工突然変異株を分離し、(B)及び(C)が増殖するためには培地にレダクトン、 Fe^{2+} を加える必要があることを確めた。

(4) 本細菌の PDH complex の生合成が、還元力の強い物質が培地に添加されると抑制される事実を

証明した。

(5) 本菌が PDH complex の活性を阻害する 比較的 low molecular weight のタンパク質を生産し、この阻害物質は PDH complex の各コンポーネントにより触媒される素反応を阻止しないにもかかわらず、オーバーオール反応を阻止することを認め、本物質により PDH complex のコンポーネント間の高次構造が阻害される可能性を示した。

以上のように本論文は、リボ酸定量に用いられるホモ乳酸菌 *Streptococcus faecalis* を用いて、生体反応のうちで最も重要なものの1つであるピルビン酸酸化に関与する複数の酵素系の存在と培養条件に応じて起こるこれらの酵素の作用の調節現象を明らかにしたものであり、学術上ならびに実際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。