

氏 名	杉 本 喜 憲 すぎ もと よし かず
学 位 の 種 類	工 学 博 士
学 位 記 番 号	工 博 第 458 号
学位授与の日付	昭 和 51 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 metabolism and physiological role of thiomethyl-containing compounds in some microorganisms (2, 3の微生物におけるチオメチル含有化合物の代謝と生理的役割 に関する研究)

(主 査)
論文調査委員 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

本論文は、原虫及び光合成細菌などの微生物を用いて、ビタミン B₁₂ 依存の酵素反応で生合成されるアミノ酸のメチオニンをはじめとするチオメチル基含有化合物の代謝ならびに生理的役割に関して行なった研究をまとめたものである。

第1部及び第2部では、高等動物におけるビタミン B₁₂ の生化学的役割に関する知見を得るために、高等動物と同様のビタミン B₁₂ 要求性を持つ原虫 *Ochromonas malhamensis* を材料とした研究をまとめている。第1部では、市販酵母エキス中に *O. malhamensis* の増殖におけるビタミン B₁₂ の効果を代替する因子の存在することを発見し、その因子を単離精製し、ネズミの催乳因子として知られている5'-メチルチオアデノシン (MTA) と同定した経過を詳細に述べている。第2部では MTA 及び種々の関連物質の *O. malhamensis* における生理的效果と代謝を調べている。MTA やメチオニンの他に、S-アデノシルメチオニン (SAM)、5-メチルチオリボース (MTR) にも、ビタミン B₁₂ 代替効果を認め、放射性同位元素を用いた上記の物質の代謝の研究から、これらのチオメチル基を含有する物質は生体内でC-1プールの維持に寄与していることを証明した。細菌類にたいしては MTA はビタミン B₁₂ 代替効果を全く示さないが、その理由として細菌類は MTA を細胞内に取り込む能力を持たないためであり、原虫 *O. malhamensis* は MTA を動物細胞と同様に取り込んで利用する能力を持つことを示した。

第3部と第4部では、培地中に低濃度のメチオニンを添加することによる光合成細菌 *Chromatium D* の生育の著しい阻害とその機構に関する研究をまとめている。第3部では、メチオニンによる生育阻害は菌体内の SAM の異常な蓄積と関連していることを認め、この蓄積がエネルギー源として与えた硫化物とチオ硫酸塩によって起こる SAM 合成酵素のレベルの上昇とも関連していることを示した。硫化物とチオ硫酸塩の存在しない条件ではメチオニンによる生育阻害は起こらないのにたいし、SAM は生育条件にかかわらず阻害することから、SAM が直接の生育阻害剤として働いていることが示唆された。第4部では生化学的に SAM の阻害作用の機作を調べている。種々の物質のうち、メチオニンによって起こる

Chromatium D の生育阻害を回復できるものを検索し、有効なものとして L-イソロイシン、L-ロイシン、L-フェニルアラニン、L-バリン、L-スレオニン及びブトレシンを発見し、これらの物質の作用を調べた結果、その作用機作が次の 3 群に分類できることを明らかにした。即ち、(1) L-スレオニン以外のアミノ酸は Chromatium D の菌体内へのメチオニンの取り込みを妨害することによって、メチオニンの増殖阻害作用を防ぎ、(2) プレトシンはメチオニンから生じる SAM の代謝を促進して菌体内 SAM レベルを低くせしめ、(3) L-スレオニンのみが菌体内に SAM が異常に蓄積した状態で Chromatium D の増殖を可能ならしめることを証明した。ついで、L-スレオニンと SAM の関係を研究し、SAM がスレオニン合成に関与する一群の酵素のうち、ホモセリン脱水素酵素活性を強く阻害し、またホモセリン・キナーゼのレベルが SAM (又はその代謝物) の存在下著しく低下することを示した。

論文審査の結果の要旨

本論文は動物栄養における必須アミノ酸であり、生化学的にはメチル基転移及び含流アミノ酸代謝に重要な役割を演じ、動物ならびにいくつかの細菌のビタミン B₁₂ 依存の酵素反応で L-ホモシステインから生合成される L-メチオニンを中心とするチオメチル基含有化合物の代謝と生理的作用を、原虫 *Ochromonas malhamensis*、光合成細菌 Chromatium D などの微生物を用いて詳細に研究した結果をまとめたものである。得られた成果のうち主要なものを以下に示す。

- (1) 動物と同様のビタミン B₁₂ 要求性を持つ原虫 *Ochromonas malhamensis* を用いて、ビタミン B₁₂ の生化学的意義を研究中、市販酵母エキス中に未知のビタミン B₁₂ 代替因子が含有されていることを発見し、この因子が以前にネズミの催乳因子 (ビタミン L) とされた 5'-メチルチオアデノシン (MTA) であることを証明した。次に MTA 及びその他のチオメチル化合物が *O. malhamensis* 菌体内へ取り込まれ代謝される経過を詳細に研究し、MTA ならびに S-アデノシルメチオニン (SAM) を主とするチオメチル化合物が、この原虫の菌体内 1 炭素化合物プールの維持に寄与することにより重要な生理的役割を演じることを明らかにした。
- (2) MTA は細菌にたいし効果を示さない。MTA の原虫と細菌にたいする効果の相違を調べた結果、原虫は動物細胞と同様に MTA を取り込んで代謝利用するのにたいし、細菌は MTA を菌体内へ取り込む能力を持たないことを証明した。
- (3) 光合成細菌 Chromatium D の増殖が低濃度の L-メチオニンで著しく阻害される原因を研究し、培地中にエネルギー源として加えられた硫化物とチオ硫酸塩によりメチオニンを SAM に変える SAM 合成酵素の活性が上昇するために、菌体内でメチオニンが SAM に変化し菌体内 SAM レベルの著しい増加を起こすことを示した。
- (4) SAM 蓄積による Chromatium D の増殖阻害の理由として、生理的に重要な L-スレオニンの生合成に関与する酵素のうち、ホモセリン脱水素酵素が SAM によって強く阻害され、ホモセリン・キナーゼのレベルが SAM 存在時著しく低下するために、L-スレオニンの生合成が阻害されるためであることを証明した。SAM による代謝調節現象を明らかにしたことは価値のある発見と云える。
- (5) L-メチオニンによる増殖阻害を防ぐ物質として、L-スレオニンのほか、L-ロイシンなどの数種の

アミノ酸とプトレシンの有効性を確め、前者はL-メチオニンの Chromatium D の菌体内への取り込みを妨害し、後者は菌体内で SAM の代謝を促進することにより効果を発揮することを証明した。

以上要するに、本論文は、原虫ならびに光合成細菌のように基礎的にも実用的にも興味深い微生物の生理における L-メチオニン、S-アデノシルメチオニン、5'-メチルチオアデノシンのごとき生化学的に重要なチオメチル化合物の役割を詳細に研究し、いくつかの新事実を発見したものであり、理論上ならびに實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。