

氏 名 藤 原 敬 男

授 与 学 位 医 学 博 士

学 位 授 与 年 月 日 昭 和 3 8 年 3 月 2 6 日

学 位 授 与 の 根 拠 法 規 学 位 規 則 第 5 条 第 1 項

研 究 科 ， 専 攻 の 名 称 東 北 大 学 大 学 院 医 学 研 究 科

生 理 学 系

学 位 論 文 題 目 *Rhodopseudomonas Spheroides* で の 特 に
嫌 気 光 条 件 で の グ リ シ ン か ら の グ リ オ キ シ ル 酸
生 成 の 機 構

指 導 教 官 東 北 大 学 教 授 菊 地 吾 郎

論 文 審 査 委 員 東 北 大 学 教 授 菊 地 吾 郎

東 北 大 学 教 授 橋 本 虎 六

東 北 大 学 教 授 石 田 名 香 雄

論文内容要旨

非硫黄紅色細菌 *Rhodospseudomonas spheroides* は、嫌気光条件で培養すると多量のポルフィリンを産生する。グリシンはポルフィリン形成の素材の一つであり、従つてこの菌でのグリシン代謝の解明は特に生理的意義を持つ。最近、立木・菊地はこの菌でのグリシンの生理的に主要な代謝的分解は、グリシン→グリオキシル酸→リンゴ酸を経て起る事を明らかにしたが、その際それぞれ等モルの C^{14} -グリシン及び無標識グリオキシル酸を用いると、グリオキシル酸に取込まれる C^{14} 活性は、嫌気光条件の時の方が好気暗条件の時よりもはるかに大きい事が指摘された。この現象は背後に何等かの光化学的な反応の介在することを予想させる。著者はこの現象の機構の解析に興味を持ち、更にその生理的意義をも明らかにする目的で実験を行つた。

R. spheroides は、Lascelles の medium S を培地として嫌気光条件で約 72 時間培養したものをを用いた。実験の基本的な系は、生菌浮遊液に C^{14} -グリシンと無標識グリオキシル酸 $5 \mu\text{moles}$ づつを添加したものであつて、嫌気光及び好気暗条件で 30°C に 30 分インキュベートした後、反応液中のグリシンを Krueger 法により、グリオキシル酸を Kun 及び Garcia-Hernandez の方法によつて定量すると共に、グリオキシル酸に取込まれた C^{14} 活性を測定した。

上の基本的な系で、グリシンの C^{14} のグリオキシル酸への取込みを測定すると、それは嫌気光条件で著しく促進されていた。この際グリシン・グリオキシル酸の量は好気暗条件では僅かに減少したにすぎないが、嫌気光条件ではグリオキシル酸の減少が著明で約半量消失していた。これに対してグリシンは嫌気光条件では減少せず、却つて多少の増加を見た。従つて嫌気光条件で残存するグリオキシル酸の C^{14} 比活性は好気暗条件の場合に比べ著しく高く、実験によつては 36 倍にも及んだ。生菌によるグリオキシル酸の嫌気光条件での著明な消失は、グリシンを添加しない場合でも同程度に観察された。この際特に C^{14} の菌体への取込みが多く、 C^{14} -グリオキシル酸からの脱炭酸やグリコール酸への C^{14} の取込みはそれほど著明でない。嫌気光条件におけるグリシン・グリオキシル酸系の反応ではグリオキシル酸の消失に伴い、常にグリシンの多少の増加が見られる事を述べたが、恐らくグリオキシル酸の少くとも一部分は、グリシンに転化するものと思われる。

ところで *R. spheroides* では、嫌気光条件での有機酸代謝は酸化段階を異にする有機酸相互の間の光化学的な共役的酸化還元反応によつて進行する事が菊地等により明らかにされてい

る。そこで上記グリシン・グリオキシル酸の基本系に諸種の有機酸を添加した場合の効果を検討した所、コハク酸・フマル酸・リンゴ酸の添加系では無添加系で認められた様なグリオキシル酸の消失、 C^{14} 活性の括弧を取込みが殆ど見られず、僅かに酢酸・ピルビン酸の添加系で無添加系と同程度に、或いはやや軽度に維持されていた。有機酸の代りに、MBやPMS等の色素を添加した実験でも、グリオキシル酸の消失や C^{14} の活撥を取込みは認められなかつた。此等の物質の添加によつて恐らくグリシンとグリオキシル酸との相互交換系や、グリオキシル酸の以後の代謝系が、菌体での代謝反応の主流から疎外されて了つたものと思われる。特にMBやPMSによる疎外が著しかつたのは上記の現象に光酸化還元系の関与のある事を強く示唆している。

次に以上の様な実験を音波破碎菌や、それを $10,000 \times g$ で遠心した上清について行つた所、嫌気光・好気暗両条件での相違は殆ど認めることが出来なかつた。特に $10,000 \times g$ 上清では、グリオキシル酸は何れの条件でも共に著明に消失して居り、これと併行してグリシン量にかなりの増加が見られた。またグリオキシル酸の C^{14} 活性は共に高い値を示した。無細胞系では非特異的なアミノ基転移反応が優勢となる事が推察される。

著者は以上述べた様に、初めに提起された現象の解明に資すると思われる幾つかの知見を得た。勿論此等の知見のみではこの複雑な現象に対して結論を与える事は困難であるが、先づ著者の実験では、嫌気光条件でのグリオキシル酸の著しい消失や、活撥な C^{14} の取込みは、生菌でのみ認められ、音波破碎菌や抽出液では殆ど認められなかつた。この点に関して興味深いのは、Gest等の*Rhodospirillum rubrum*での報告であつて、彼等はFerricyanideの生菌への取込みが光照射で強く促進される事を見ている。若し類似の光照射の影響が、著者の系でグリオキシル酸に関して認められるならば、光照射は当然グリオキシル酸の菌体内への取込み、従つてグリオキシル酸の代謝やグリシンとの交換トランスアミノーションを強く促進すると想像される。しかし他方ではトランスアミノーションのみでは説明出来ない事実も幾つかある。此際グリシン・グリオキシル酸系を一つの可逆的酸化還元系と見なすならば、グリオキシル酸の酸化分解・グリシンへの還元的アミノ化・グリシンのグリオキシル酸への酸化的脱アミノ等の諸反応が光酸化還元系を介して共役することが十分に考えられる。著者は更に反応系にFerricyanideを添加すると、好気暗条件、嫌気光条件の何れにおいてもグリシンが著明に減少することを観察しているが、これも此菌におけるグリシンのグリオキシル酸への変化に酸化的反応機構が関与している可能性を示唆している。

尚この菌では C^{14} -グルタミン酸と無標識 α -ケトグルタル酸系についても、 C^{14} -グリシンと無標識グリオキシル酸系におけると同様の現象が認められた。 C^{14} グリシンとグリオキシル酸の系に見られた現象が、他のアミノ酸及びそれに対応する α -ケト酸の間の反応にも一般的に成立する可能性がある。

審査結果の要旨

グリシンはポルフィリン生合成の基本素材の一つであるが、著者はポルフィリン合成能の強い光合成細菌 *Rhodospseudomonas spheroides* についてグリシン代謝を特にグリシン-グリオキシル酸の相互転換の面から追究した。*R. spheroides* では基質として C^{14} -グリシンと無標識グリオキシル酸とを等モルづつ用いると、好気暗条件よりも嫌気光条件の時にはるかに多くの C^{14} がグリオキシル酸に取りこまれる。著者はこの現象を詳細に検討した結果、グリシン-グリオキシル酸の相互転換現象には、従来知られていたアミノ基転移反応のほか、さらに主要な反応として恐らくグリシンの酸化的脱アミノ反応およびグリオキシル酸への還元的アミノ化反応の関与があるべきことを推測するにいたつた。この酸化還元が光化学的反応によつて強く促進されるものと推定された。このことは光合成細菌におけるポルフィリン合成の素材供給経路を明らかにした点で重要であるが、著者はさらに、この種の現象はグリシン-グリオキシル酸系のみならず、グルタミン酸- α -ケトグルタル酸系およびアラニン-ピルビン酸系についても或程度成立することを明らかにした。これは光合成細菌におけるアミノ酸代謝の一般機構を解明する上で有意義な知見である。

したがつて本論文は学位を授与するに価値あるものと判定する。