

Title	細菌のチトクロム系（V）緑膿菌の呼吸成分の生理学的機能について
Author(s)	山中, 健生
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/28248
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

【 41 】

氏名・(本籍)	山 中 健 生 やま なか たて お
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 9 8 号
学位授与の日付	昭 和 35 年 3 月 25 日
学位授与の要件	理学研究科生物化学専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目論	細菌のチトクロム系 (V) 緑膿菌の呼吸 成分の生理学的機能について
文 審 査 委 員	(主 査) 教授 奥貫 一男 (副 査) 教授 赤堀 四郎 教授 二国 二郎 教授 伊勢村寿三 助教授 佐藤 了

論 文 内 容 の 要 旨

緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)から種々の呼吸成分 (P-cyt * 554, P-cyt 551, P-青色タンパク質および P-cyt 酸化酵素) が精製されているがこれらの成分が菌体内でどんな働きをしているかわからなかった。そこでこれらの呼吸成分がこの細菌の細胞内ではたしている役割について総合的な研究をおこなった。

この細菌は酸素呼吸のほかに硝酸塩呼吸もすることができるが、定常状態にある生菌に硝酸塩を加えると 560 μ に α 吸収帯を有する cyt が酸化されることがオパールグラス法により明らかになった。したがってこの細菌には上記 cyt のほかにもう1種類の cyt が存在し、しかもその cyt が硝酸塩呼吸に深い関係をもつことが示されたわけである。そこでこの cyt を P-cyt(560) と名づけた。生菌の場合も無細胞抽出液の場合も基質による P-cyt (560) の還元程度はコハク酸塩>乳酸塩であり、また硝酸塩還元の数もコハク酸塩>乳酸塩である。

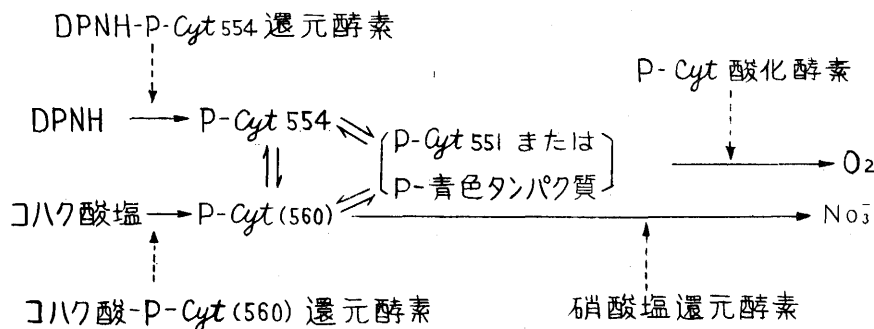
この細菌のアセトン粉末抽出液を硫酸で分別沈澱して 30~70%飽和の部分についてしらべてみると、乳酸塩や DPNH の添加によりその標品内に多量に含まれている P-cyt 554 が還元される。またこの標品は乳酸塩を基質にして外部から加えた P-cyt 551 を急速に還元するし、その速度は DPN の添加により増加する。また乳酸塩のかわりに DPNH を加えても P-cyt 551 の還元がおこる。

生菌を音波処理して 10000 \times g で遠心分離後上清を硫酸で沈澱させたのち水にけん濁して一夜透析したものは、コハク酸塩を基質にして外部から加えた P-cyt 551 を急速に還元する。

生菌を音波処理後 10000 \times g で遠心分離した上清では酸素吸収はコハク酸塩>乳酸塩であるが、乳酸塩酸化能は標品により非常に差がある。そして乳酸塩酸化能が低い標品ほどその中に含まれている P-cyt 554 の乳酸塩による還元の数も弱いが弱い。

P-cyt 551 および P-青色タンパク質のそれぞれの還元型は P-cyt 酸化酵素により容易に酸化される。これらの事実から緑膿菌の末端電子伝達系に対してつぎの模式図を考えた。

* cyt=チトクロム



論文の審査結果の要旨

緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) のチトクロム(以下 cyt)系について奥貫研ですでに P-cyt 551, P-青色タンパク質, P-cyt 554, P-cyt 酸化酵素の抽出精製に成功し, ことに前二者を均一な結晶として得て, それらのタンパク質としての物理化学的性状を明らかにした報告を行った。

山中君の論文「細菌のチトクロム系について」においては, これらの各 cyt 成分などが緑膿菌の細胞内ではたしている役割について総合的な研究を行った結果をまとめ, 興味ある知見を発表したものである。

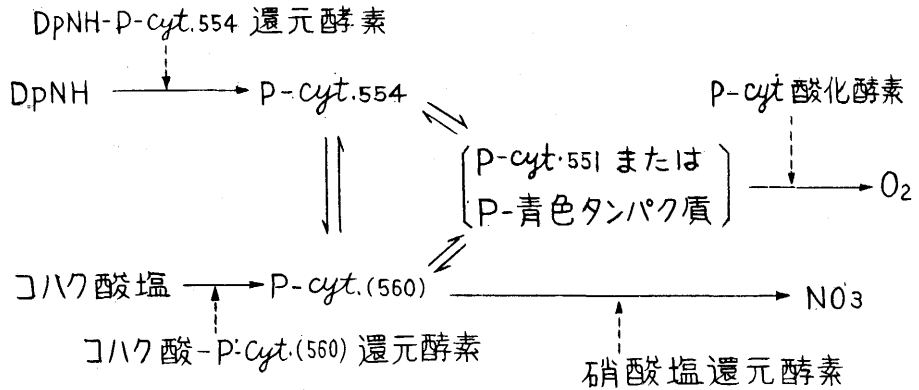
緑膿菌は酸素呼吸のほかに硝酸塩呼吸もすることができるが, 定常状態にある生菌に硝酸塩を加えると 560m μ に α 吸収帯を有する cyt が酸化されることがオパールグラス法で明らかになった。したがって, この細菌には上記 cyt のほかにもう一種類の cyt 成分が存在し, しかもその cyt 成分が硝酸塩呼吸に深い関係をもつことが示された。そこでこの cyt を P-cyt (560) と名づけ, それがコハク酸塩 \rightarrow P-cyt (560) \rightarrow 硝酸塩で示されるように基質の電子をはこぶことを実験的に証明した。一方, 緑膿菌のアセトン粉末抽出液を硫酸アンモニウム (以下硫酸) で分別沈澱して 30~70% 飽和の部分についてしらべると乳酸塩や DPNH の添加により, その標品内に多量にふくまれている P-cyt 554 が還元される。またこの標品を用いると乳酸塩を基質として外部から加えた P-cyt 551 が急速に還元され, その速度は DPN 添加により増加する。乳酸塩のかわりに DPNH を加えても P-cyt 551 の還元がおこるから, 乳酸塩 \rightarrow (DPN \rightarrow DPNH+H $^+$) \rightarrow P-cyt 554 \rightarrow P-cyt 551 であらわされる電子伝達経路が推定された。

さらに, 生菌を音波処理, 10,000 \times g で遠心分離後, 上清を硫酸で沈澱させたのち, その沈澱を水にとかけて一夜透析したものは, コハク酸塩を基質にして P-cyt 551 を急速に還元させることができる。のみならず音波処理後の無細胞抽出液の酸素吸収はコハク酸塩 $>$ 乳酸塩であるが, 乳酸塩酸化能が弱い標品ほどその中に含まれている P-cyt 554 の還元されかたが弱いことが知られた。したがって, P-cyt 554 が乳酸塩の脱水素反応に密接な関係をもっていることが裏づけされた。

上記音波処理による無細胞抽出液にコハク酸塩を加えて, その中に含まれている cyt を還元しておき, 硝酸塩を加えると無酸素状態でも P-cyt (560) と P-cyt 554 とが酸化される。コハク酸塩の代りに乳酸

塩をもちいた場合には、P-cyt (560), P-cyt 554 および P-cyt 551 が酸化される。この事実と、生菌に硝酸塩を加えた場合 P-cyt (560) だけが酸化されることから、脱水素酵素の強さを考えに入れると、これらの酸化還元電位は P-cyt 551 > P-cyt 554 > P-cyt (560) の順に低くなると推定される。

P-cyt 551 および P-青色蛋白質のそれぞれの還元型は P-cyt 酸化酵素によって容易に酸化されることなどを考慮すると緑膿菌の末端電子伝達系はつぎのように配列されていると推論できる。すなわち



である。

山中君の論文は緑膿菌のチトクロム各成分ごとに P-cyt (560) の生理的意義を明らかにしたもので、この論文は理学博士の学位論文として充分の価値あるものと認める。