

Title	P-クロル安息香酸による安息香酸々化酵素の誘導形成
Author(s)	林, 伸一
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/28489
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【 42 】

氏名・(本籍)	林 伸 一 はやし しん いち
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 323 号
学位授与の日付	昭和 37 年 6 月 22 日
学位授与の要件	医学研究科 生理系 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	P-クロル安息香酸による安息香酸々化酵素の誘導形成 (主査) (副査)
論文審査委員	教授 須田 正己 教授 天野 恒久 教授 吉川 秀男

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

細菌における誘導酵素形成は蛋白質合成の機作あるいはその調節機構を解明する上に好適の材料としてこれまでに多くの研究がなされてきたが、最近 Jacob, Monod らは *E. coli* による β -ガラクトシダーゼ形成の微生物遺伝学的解析から repressor, operon 等の新しい概念を中心とする有力な仮説を提唱している。著者の属する教室では、マンデル酸酸化酵素系の所謂「逐次的誘導形成」の問題をとり扱ってきたが、最近 *Micrococcus ureae* において P-クロル安息香酸が安息香酸酸化酵素の non-metabolizable inducer として作用することがみいだされ、またこの酵素の菌体外抽出が可能となりその酵素化学的性状もかなり明かにされたため、これを用いて inducer の作用機構に関する実体的解析を目標に研究をすすめ、現在までに若干の新知見を得た。よってここに報告する。

〔方法並びに成績〕

方法 菌株：*Micrococcus ureae*、菌の培養：クエン酸を唯一の炭素源とする合成培地にて 30° で振盪培養、安息香酸酸化酵素の活性測定：生菌については (a) 安息香酸を基質とする酸素吸収 (b) 安息香酸—カルボキシル ^{14}C を基質とし遊離する $^{14}\text{CO}_2$ を BaCO_3 として回収して放射能測定、無細胞抽出液については上の (b) 法によって測定、無細胞抽出液の調製：田中らの方法に従い音波磨砕によった。P-クロル安息香酸—カルボキシル ^{14}C ：P-アミノ安息香酸—カルボキシル ^{14}C より合成。

成績：P-クロル安息香酸を培地に加えて菌を培養した場合、ブイオン培地を用いると安息香酸酸化酵素の誘導形成がみとめられるに反し、クエン酸培地を用いた場合にはほとんどみとめられなかった。そこでブイオン中の有効成分を検討した結果、トリプトファンが著しい効果を有することが判った。すなわち、P-クロル安息香酸とトリプトファンとをふくむクエン酸培地培養菌の音波磨砕液は著明な酵素活性を示す(表)。

トリプトファンの効果は特異的であって、他のアミノ酸はすべて無効であるが、キヌレニン、アントラニル酸およびカテコールはトリプトファンと同様の作用を有することがみいだされた。

P-クロル安息香酸をふくむクエン酸培地中で振盪した菌はそのままで酵素活性はわずかであるが、これを洗滌後上記トリプトファンあるいはカテコール等の物質（仮に

coinducer とよぶ）と incubate すると約 30 分の間に著明な酵素形成がおこる。従って P-クロル安息香酸による誘導は二つの過程より成ると考えられる。第 1 過程（P-クロル安息香酸との接触）は 2~4 時間で飽和に達し、その効果は菌をりん酸緩衝液中で長時間振盪してもあまり減弱しない。クロラムフェニコール、ピュロマイシン等の蛋白合成阻害剤はいずれの過程をもほぼ完全に阻害する。また O-クロル安息香酸および 5-ブロモウラシルは第 1 過程を著明に阻害する。

P-クロル安息香酸の菌体膜透過性に関しては、これがきわめて短時間に外界濃度と平衡に達し、また濃度勾配に反する蓄積はみとめられなかった。従って permease の介在はないものと考えられる。

次に誘導の過程における inducer の菌体内固定の可能性を ^{14}C でラベルした P-クロル安息香酸を用いて検討した。 $5 \times 10^{-5}\text{M}$ の ^{14}C -P-クロル安息香酸をふくむクエン酸培地中で 4~6 時間振盪した菌体を十分洗滌し、これから酸性エーテル処理によって抽出を行った結果、 30° で振盪した場合は 0° の場合に比較して 2~5 倍の P-クロル安息香酸が検出された。

〔総括〕

non-metabolizable inducer である P-クロル安息香酸を誘導基質として用いることにより、安息香酸酸化酵素の誘導が二つの過程より成ることが明らかにされた。すなわち、P-クロル安息香酸によって誘起される第 1 過程と、coinducer によって活性ある酵素が形成される第 2 過程である。いずれの過程も蛋白合成が関与することは阻害剤の実験から明らかである。その具体的機構に関しては種々の可能性が考えられるが今後の研究にまたなければならない。

また P-クロル安息香酸が菌体内に固定されることがみいだされたが、これが誘導酵素形成の本質的な過程であるかどうか、本質的なものとすればさらにその固定の様式部位等に関する解析を今後行なっていきたい。

論文の審査結果の要旨

誘導酵素形成の現象は蛋白質の生合成が外界の条件に対応してどのように方向づけられるかという生命の基本的なしくみを明らかにする上に好適の材料であるが、その具体的な機構はまだほとんど知られていない。

著者の論文は著者の属する研究室において開発された誘導酵素形成系を材料として用い、*Micrococcus ureae* で P-クロル安息香酸が安息香酸酸化酵素の non-metabolizable inducer である事実を利用して誘導の実体的解析を行なった結果をまとめたものである。

表 トリプトファンの効果

No.	培地への添加	酵素活性
1	L-トリプトファン	cpm. 8
2	P-クロル安息香酸	102
3	トリプトファン+P-クロル安息香酸	12,000
4	(1+2)	680

この研究により、P-クロル安息香酸による誘導が二つの過程より成ることが明らかにされた。それは微量の P-クロル安息香酸が菌体内に強く結合する第 1 過程と、トリプトファン・キヌレニンアントラニル酸、カテコール等の所謂 *coinducer* の作用によって安息香酸酸化酵素の形成される第 2 過程とである。いずれの過程にも蛋白質の合成が関与することが確められ、また、第 1 過程に DNA 合成の関与することが示唆された。*coinducer* の作用機序に関しては今後の研究にまたねばならないが、これらの物質がいずれも代謝経路の上で安息香酸と密接な関係にあることは興味深い。誘導基質の菌体内結合の問題はこれを究明することにより誘導現象のより実体的な機構が明らかになるのではないかと期待される。

以上著者の研究は誘導酵素形成の機序に関する重要な知見を得たものであって、学位論文としてここに推せんする次第である。