Osaka University Knowledge Archive

Title	パン酵母の無機ポリ燐酸の新しい抽出法とそのイオン交換クロマトグラフィーによる分画
Author(s)	熊谷, 寛次
Citation	大阪大学, 1964, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/28584
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【10】

氏　名・(本籍)	熊谷寛次（くまがいかんじ）
学位の種類	理学博士
学位記番号	第　479　号
学位授与の日付	昭和39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	**パン酵母の無機ポリ燐酸の新しい抽出法とそのイオン交換クロマトグラフィーによる分画**
論文審査委員	(主　査)　教授　二国　二郎 (副　査)　教授　赤堀　四郎　教授　奥貫　一男

論文内容の要旨

グルコースを炭素源とした無機塩培地中で好気的条件下に燐酸飢餓の前処理を受けたパン酵母は，与えられたオルト燐酸を急速に取り込んで，その大部分を無機ポリ燐酸として蓄積し，その量は生菌体重量のおよそ1％に達することがある。

参考論文Ⅰにおいて，パン酵母におけるポリ燐酸の集積の場所が central vacuole であること，従来 volutin granule と呼ばれて来た顆粒は，その細胞学的実在性が疑わしく，in vitro に生成し得る人工顆粒との酷似性などとも合わせて，いわゆるボルチン顆粒と言うのは，central vacuole 内に集積された遊離状態のポリ燐酸が，諸種の細胞化学的処理によって，光学的あるいは電子線的に可視となったものであろうと推定した。

参考論文Ⅱにおいては，縮合度12までの純粋なオリゴ燐酸をイオン交換クロマトグラフィーの方法によって調製し，縮合度とメタクロマジー反応との間の関係を調べ，縮合度8以上のものから530mμのγ帯の変化が見られることを示した。

一方，先に参考論文Ⅰにおいて示したように，細胞化学的には集積されたポリ燐酸は central vacuole に極在することおよび HAROLD 等の Neurospora crassa におけるポリ燐酸の細胞内局在に関する報告等より，従来のポリ燐酸の抽出および分画法に疑問を持った。本学位論文においては抽出方法の検討および抽出されたポリ燐酸の分画を行なった。先づ集積されたポリ燐酸を出来るだけ天然に近い状態で一つの画分として得るには，0.05M の Tris-HCl 緩衝液（pH 8.7）を用いて抽出するのが最も良い結果を与えることを見出し，更にこれに 0.2mM の酢酸ウラニルを添加すると，抽出および分画操作中における高縮合度のポリ燐酸の解重合が抑えられることを見出し，従来の方法と比べてより天然に近い状態でポリ燐酸を単一画分として抽出する新方法を提出した。この抽出方法によって得られたパン酵母のポリ燐酸，および従来の方法によって得られたいわゆる酸溶性および不溶性のポリ燐酸を同一条件下にイオン交換クロマト

グラフ法により分別し，各画分の平均縮合度を末端基滴定法によって測定した。これらの方法を通じて，パン酵母の蓄積する一連の縮合度の異なるポリ燐酸の量的分布を示し，また酢酸ウラニルを含む Tris-HCl 緩衝液を用いる新抽出法が優れていることを確めた。

論文の審査結果の要旨

微生物中に含まれるポリリン酸は微生物の高エネルギーリン酸の貯蔵形態であると考えられているが，微生物体からの従来の抽出法は極めて不完全で，抽出中のポリリン酸の変質が著しく，この物質の生理的意義に関し詳細の研究を進めることは不可能であった。

熊谷寛次君は修士過程中からパン酵母のポリリン酸の集積，形態，反応等について研究をつづけ，既に二つの報告を発表しているが，それらの知見に立って，特に菌体中のポリリン酸を出来るだけ菌体中におけると同様の形で，しかも一つの区分として抽出することの必要性を痛感して本研究を開始した。

先ず従来よりも温和な抽出法として水，食温水，アルカリ溶液その他を用い，その pH，濃度，緩衝液の種類等を変えて多数の実験をくりかえした結果，脱脂，乾燥した酵母を pH 8.7の 0.05M トリス—塩酸緩衝液（ウラニルアセテートを含む）で 0°C 附近で3回抽出することによって，パン酵母中に蓄積された遊離の重合度の小さいリン酸およびポリリン酸をほぼ定量的に抽出し得る新方法を完成した。この方法は操作が簡単で，ポリリン酸の加水分解のおそれが少くまた核酸等の他のリン酸化合物の混入が最少である。

さらにこの抽出液中のリン酸をイオン交換クロマトグラフィーによって，オルソリン酸から順次重合度の高いリン酸区分に分画し，各ピークの平均重合度を測定した。この分画法によるリンの回収はほぼ完全である。

この抽出法と分画分析法とを組合せて，パン酵母中の遊離リン酸が，オルソリン酸，重合度3および4の低重合リン酸，平均重合度約40および約70の数区分のピークに分れる事を明らかにした。

以上熊谷君の論文は，パン酵母のエネルギー貯蔵体と考えられる遊離のポリリン酸を出来るだけ天然に近い状態で抽出する新しい方法を見出し，さらにイオン交換クロマトグラフィーによって，これを分画，分析してその構造を明らかにしたもので，従来の抽出法による混乱を正し，微生物体内のポリリン酸の研究に有力な新手段を提供したもので，博士論文として十分の価値あるものと認める。