

Title	細菌における酸化的リン酸化の研究
Author(s)	今井, 勝行
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/29617
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【 1 】

氏名・(本籍)	今井勝行 <small>いま かい かつ ゆき</small>
学位の種類	理学博士
学位記番号	第 1243 号
学位授与の日付	昭和 42 年 6 月 12 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
学位論文名	細菌における酸化的リン酸化の研究
論文審査委員	(主査) 教授 佐藤 了 (副査) 教授 奥貫 一男 教授 荻原 文二

論 文 内 容 の 要 旨

酸化的リン酸化の研究は主に動物ミトコンドリアを用いて行われているが、いくつかの重要な知見は細菌における研究がその端緒となっているものがある。

この研究では材料として脱窒性細菌である *Micrococcus denitrificans* を選び、まずその電子伝達系およびエネルギー伝達系を調べたが動物ミトコンドリア系と著しい類似性を示した。この膜破片の NADH 酸化系について更に詳しく調べる目的で、各種の色素、キノン酸を電子受容体として用い、異った段階から電子を引き出すことを試みた。その結果は次のように要約されることが判った。

- (1) DCIP, MTT, benzyl viologen の各色素は主にフラビン以前の段階で還元される。
- (2) ferricyanide, vitamin K₃, benzoquinone はフラビン以前および一部 cytochrome の段階で還元される。
- (3) CoQ₀, dimethyl- および trimethyl-quinone はこの菌に存在する CoQ₁₀ 部位、フラビン以前、および cytochrome の三段階で電子を受容する。
- (4) methylene blue はロテノン非感受性でアテプリンで阻害される唯一の受容体である。

以上の結果をもとに、NADH-cyt. *b* 部位でのリン酸化に必須の成分は何か、またどの部位迄の電子の流れが必要であるのかという問題を調べるため、これらの受容体を用いてリン酸化活性を測定した。有意なリン酸化活性を示したのは、CoQ₀, dimethyl- および trimethyl quinone のみであった。

最近、酵母ミトコンドリアの実験から、非ヘム鉄が NADH-cyt. *b* 部位でのリン酸化反応に密接な関係を有しているという考えが出されているが、この相関性について検討する意味でまず、動物ミトコンドリアと同じ非ヘム鉄が存在するかどうかを調べた。ESR スペクトルを測定すると、NADH 還元により $g=1.94$ のシグナルが現れ、強い温度依存性を示した。膜破片に存在する反応性の大きい SH基を PCMS で阻害すると、このシグナル出現は大巾に抑えられる。これらの実験から、この

細菌にも動物ミトコンドリアに類似した非ヘム鉄が存在すると考えられる。しかし、鉄欠乏培地で培養した菌の膜破片は、NADH 還元によっても $g=1.94$ のシグナルは殆んどみられないが、正常な膜破片と同じ呼吸活性を有し、さらにリン酸化も全く変らない効率で起ることがわかった。以上の事実は、非ヘム鉄がリン酸化に必要なという従来の考えに再検討を促すものと考えられる。

論文の審査結果の要旨

酸化的リン酸化の機作は主として哺乳動物細胞のミトコンドリアを材料として研究されているが、まだ完全には明らかにされていない。今井君は好氣的に生育した脱窒性細菌 *Micrococcns denitrificans* から安定な膜破片を調製し、これが NADH およびコハク酸を基質として活発な呼吸を行なうとともに、それに共役して ATP を合成することを見出し、これを用いて酸化的リン酸化の機作の研究を行なった。

まず、この膜破片の一般的性質を検討し、これが NADH 脱水素酵素部位とチトクローム *b*-チトクローム *c* 部位の 2 カ所で ATP 合成を行なうことを確かめた後、主として NADH 脱水素酵素部位における電子伝達経路とリン酸化の関連を詳細に研究した。その結果、この菌の電子伝達系の NADH 脱水素酵素部位には有機水銀剤に対する反応性を異にする 2 つの SH 基、フラビン、非ヘム鉄、ロテノン感受性部位および coenzyme Q_{10} から成り、哺乳動物細胞のミトコンドリアの場合と、その組成および配列において、きわめて類似していることを見出した。次に、各種の色素およびキノンを人工的電子受容体としてこの膜破片における NADH の酸化を詳細に追究し、coenzyme Q_0 を受容としたときかなりのリン酸化が起ることを認めた。また、このリン酸化が起るためには、NADH から電子がロテノン感受性部位を通して coenzyme Q_{10} 部位にまで到達することが必要であることを証明することができた。

ミトコンドリアについての研究から、この部位でのリン酸化には電子スピン共鳴スペクトルで $g=1.94$ の信号を示す非ヘム鉄が直接的に関与していると考えられていた。しかし、今井君はこの菌を鉄欠乏培地に生育させたものから同様に膜破片を調製したところ、このものは $g=1.94$ の信号を殆んど示さないにもかかわらず、NADH 酸化能もそれに共役するリン酸化能もほとんど正常菌からの膜破片とことならないことを見出した。この事実はリン酸化と非ヘム鉄の関連についての従来の考え方に再検討を要求するものといえる。

以上のように、今井君の業績は複雑難解な酸化的リン酸化の機作の解明に重要な手がかりを提供したものであり、理理学博士の学位論文として十分の価値あるものと認める。