The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	酵母のThiamine集積ならびに生合成におよぼすPhenylthiazinothiamineの影響
Author(s)	飯尾, 利弘
Citation	大阪大学, 1969, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/30107
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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【2】

氏名・(本籍)	飯尾利弘（いいお としひろ）
学位の種類	薬学博士
学位記番号	第 1810 号
学位授与の日付	昭和44年9月20日
学位授与の要件	薬学研究科応用薬学専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**酵母の Thiamine 集積ならびに生合成におよぼす Phenylthiazinothiamine の影響**
論文審査委員	(主査) 教授 川崎近太郎 (副査) 教授 青沼 繁 教授 上原喜八郎 教授 岩田平太郎

論文内容の要旨

一般に酵母は乾燥菌体重量の10%にもおよぶ Thiamine を集積するが，その生理的意義あるいは集積機構に関しては明らかでない。

Thiamine 拮抗物質には拮抗作用と Thiamine 透過性の阻害作用に平行関係が存在すると考えられているが，酵母の特性として知られている Thiamine 集積現象にも適用して考えることができ，集積機構の解明にこれら拮抗物質の利用性が考えられる。

Thiamine と Diethylacylphosphonate から得られる Thiazinothiamine 誘導体のうち，Phenylthiazinothiamine (PTT) は従来の Thiamine 拮抗物質に比較して非常にすぐれた Thiamine 集積阻害作用を有し，しかも酵母の生理作用にはまったく影響を与えないことを見出し，この特異性および Thiamine 集積機構との関連性について検討した。

酵母の増殖と Thiamine 集積ならびに生合成との関連

酵母は増殖が進むにつれてその Thiamine 集積能ならびに生合成能に低下をきたし，対数増殖期では乾燥菌体 mg あたりの Thiamine 集積ならびに生合成 (OMP+MHT) は 80μg および 1.4μg であったが最大増殖期に達した酵母菌体ではそれぞれ 10μg および 0.3μg に低下した。この両性能の低下は増菌中の死菌数増加によるものではなく，呼吸活性あるいは新らしい培地中での増殖性および糖の利用性などの結果から酵母菌体の生理活性の低下によるものであり，これら両性能の高い菌体ほど RNA 含量も高い値を示した。このことは酵母の Thiamine 集積ならびに生合成は増殖しうる状態ではじめて認められる現象といえる。

OMP と MHT とから生合成された Thiamine はすべて菌体中に存在しており，培地中へ溶出する現象は認められず，この際生成した Thiamine の約25%は燐酸エステル型 Thiamine であった。一方，酵母の Thiamine 生合成は Thiamine 共存下で増殖することにより著しく押制

され，菌体内 Thiamine 濃度（とくに燐酸エステル型 Thiamine 量）の増加につれて，その抑制効果も強く認められた。この抑制作用は短時間での集積による菌体内 Thiamine 量の増加では（大部分は遊離型 Thiamine として存在）認められなかったことから feedback inhibition ではなく repression によるものと推察される。酵母菌体から抽出した酵素での Thiamine 生合成系において，生成 Thiamine 量にたいする燐酸エステル型 Thiamine 量の割合を比較すると，対照菌体からでは70%と高い値を示したのにたいして，Thiamine 生合成の抑制された酵母された酵母菌体からでは40%と低く，燐酸エステル型 Thiamine 量に著しい減少が認められた。さらに Thiamine 生成が抑制された酵母菌体では Thiamine 生合成の基質である OMP のとりこみも抑制されており，Thiamine 生合成能と基質透過性には関連性が示唆された。

酵母の Thiamine 集積作用におよぼす Phenylthiazinothiamine の影響

酵母の Thiamine 集積作用は Thiamine 構造類似体により阻害され，とくに Thiamine の Thiazole 部が 1.4-Thiazine となった Thiazinothiamine の誘導体に強い集積阻害力がみられ，Thiazine 部C－2位が Phenyl 基で置換された PTT は，Thiamine 拮抗物質である Pyrithiamine および Imidazolothiamine あるいは Thiamine の Pyrimidine 部である OMP の約1000倍の阻害力を示した。しかしThiamine の Pyrimidine 部4位の NH_2 基が OH 基に置換した。Oxythiamine や Pyrimidine 同族体である Oxy-OMP, Oxy-AMP には阻害作用はみられなかったことから Pyrimidine 部の構造，とくに Pyrimidine部4位の NH_2 基の存在が集積阻害作用の発現に重要であると思われる。この PTT の強い Thiamine 集積阻害作用は菌体の増殖や糖発酵能などの生理活性を低下させるためによるものではなく，Thiamine 集積作用のみを特異的に阻し，Pyrithiamine とその性質を大いに異にするものであった。

PTT と Pyrithiamine の Thiamine 集積作用にたいする態度を比較すると，阻害効果の強度のほかにその阻害力の持続性に大きな差異がみられた。この両者の阻害性の違いは，PTT が単純拡散でとりこまれるのにたいして，Pyrithiamine は能動輸送の透過機構をとるために生ずる現象であった。さらに菌体内にとりこまれた Pyrithiamine は Thiamine 集積阻害に直接関与してないこと，また PTT と接触させた菌体でも洗浄操作によりその Thiamine 集積作用は PTT 共存下にくらべて著しく増大することから，阻害体の Thiamine 集積阻害作用は菌体内よりも培地中に存在する濃度が重要であり，阻害体の菌体への透過機構が阻害効果の持続性に関係していることを示唆するものである。

集積 Thiamine にたいする阻害体の態度に関して両者間に定量的な置換現象は認められなかった。しかし PTT 添加時では，集積 Thiamine の一部が培地中に遊離してきたが，PTT の添加量と集積 Thiamine の遊離量には比例関係はなく，増殖性の高い培地中で遊離量が増大するが，0 °Cではみられないことから，この現象は増殖に依存したものと考えられる。

酵母の Thiamine 生合成におよぼす Phenylthiazinothiamine の影響

PTT は Thiamine の集積作用にたいしては強い阻害性を示したが，Thiamine 生合成にはなんら影響を示さなかった。酵母の Thiamine 生合成能は従来 Pyrimidine 体の定量法に応用されてきたが，共存する Thiamine により定量値が影響されやすい欠点があった。これは酵母の

Thiamine 集積作用によるものであったが，Thiamine 集積作用のみを特異的に阻害する PTT の性質を利用して Thiamine の影響をとり除くことができた。さらに，この PTT を適用する方法では，反応菌体のみを分離して Thiamine 量を測定するため試料中の他の盲螢光物質の影響もなく，また Pyrimidine 体を分離精製する必要もないことで特異性が高いものといえる。しかし Pyrimidine 体が AMP のばあいには PTT 添加により Thiamine 生合成は著しく抑制されるため本条件下での定量はできない。

酵母菌体への AMP のとりこみにおよぼす PTT の影響をみると，PTT 添加時での AMP のとりこみ量は無添加時の約⅓に低下した。さらに，PTT 共存下での MHT と AMP からの Thiamine 生合成を粗酵素系でしらべると，酵母浮遊液の場合とは異なりその Thiamine 生合成はなんら影響を受けなかった。これらの結果，酵母菌体での AMP からの Thiamine 生合成を PTT が抑制する原因として，菌体への AMP 透過性の阻害が作用点であり，PTT は菌体内ではなんら作用を有するものでないことが明らかとなった。

結　　論

(1) 酵母の Thiamine 集積ならびに生合成能が酵母の増殖にともないその生理活性と関連して変化すること，および Phenylthiazinothiamine が酵母の発酵，Thiamine 生合成その他の生理作用に影響せず Thiamine 集積作用のみを特異的に阻害することを明らかにした。

(2) Phenylthiazinothiamine と Pyrithiamine の Thiamine 集積阻害機構を比較し，Phenylthiazinothiamine は Pyrithiamine にくらべて阻害効果が著しく強くしかも阻害効果に持続性がみられ，これは両者の菌体透過性の差異によるものであり，集積Thiamine にたいしては Phenylthiazinothiamine のみに一部遊離現象が認められた。

(3) 酵母の Thiamine 生合成能および Phenylthiazinothiamine の Thiamine 集積阻害性を利用し，Pyramine の定量法を確立した。

論文の審査結果の要旨

酵母 *Saccharomyces cerevisiae* の Thiamine 集積能ならびに生合成能が酵母の増殖過程で変化し，対数増殖期で高い活性を示し，菌体と生理活性との関連を明かにした。

Phenylthiazinothiamine が酵母の生理活性，Thiamine 生合成を阻害しないが Thiamine 集積のみを強く阻害することを見出し，Phenylthiazinothiamine の阻害機構ならびにこれを利用した，Pyrimidine 体と Thiazole 体からの Thiamine 生合成反応を解明した。

よって本論文は薬学博士の学位を授与する価値あるものと認める。