

Title	Bacillus megateriumの芽胞殻構造とその発芽による変化について
Author(s)	西原, 力
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/30110
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【 6 】

氏名・(本籍)	にし 西	はら 原	つとむ 力
学位の種類	薬	学	博 士
学位記番号	第	1 9 5 8	号
学位授与の日付	昭 和 4 5 年 3 月 3 0 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	<i>Bacillus megaterium</i> の芽胞殻構造とその発芽による 変化について		
論文審査委員	(主査) 教授	川崎近太郎	
	(副査) 教授	上原喜八郎	教授 青沼 繁 教授 岩田平太郎

論 文 内 容 の 要 旨

Bacillus megaterium QM B 1551 および *B. megaterium* ATCC 19213 (以下1551菌, 19213菌と略す) の芽胞について芽胞殻を物理的, 化学的処理により 3つの特徴的な成分, すなわち Alkali-soluble Fraction, Paracrystal Fraction, Resistant Fraction (以下 A-Fr, P-Fr, R-Fr と略す) に分画し, 形態的, 化学的な検討から, 芽胞殻の物理的構造を明らかにし, またそれらの発芽による変化を検討することにより, 発芽機構について考察した。

(1) *B. megaterium* QM B 1551 の芽胞殻の形態構造と化学構造

1551菌の芽胞殻を特徴的な性状を示す A-Fr, P-Fr, R-Fr に分画し, 分画処理前後の沈渣の超薄切片像の比較から, 各分画の存在部位ならびに存在形態を検討したところ, 本菌の芽胞殻は約 500Å の電子密度の高い外層と低い内層をもち, 外層は主に R-Fr からなり, 内層は繊維構造を示す P-Fr と層状構造をとらず繊維構造の間げきを充てんする形で存する A-Fr の組み合わせからなっていることがわかった。乾燥重量および化学組成の検討から, 芽胞殻は全芽胞重量の約 30%を占め, R-Fr:P-Fr:A-Fr=17:34:44 の割合で存在し, R-Fr すなわち, 外層にリンおよび Hexosamine が濃縮されていた。この R-Fr にはリン以外に Muramic acid, Galactosamine, Aspartic acid, Glutamic acid, Phenylalanine および Lysine が多く検出され Phosphomucopeptide であることが推定された。A-Fr は Aspartic acid および Glutamic acid を多く含み, pH 4 付近に等電点をもつ酸性蛋白成分であり, P-Fr には Cystine+Cysteine が多く検出され, アミノ酸組成においても, また X線回析からも, α-Keratin 様物質を主成分とすることが明らかとなった。

(2) *B. megaterium* ATCC 19213 の芽胞殻の形態構造と化学構造

1551 菌のほあいと同様の操作により, 19213 菌についても芽胞殻の形態的, 化学的構造を検討

した。本菌においても1551菌と同じく、芽胞殻は2層からなり、外層は R-Fr、内層は繊維構造を示す P-Fr とその P-Fr の間げきを充てんする A-Fr の組み合わせから構成されているが、芽胞殻全体としては1551菌よりも薄く、とくにその外層は約1/5の厚さであった。またリン含量も低く、リン含量と芽胞殻の厚さとが関連するという Fitz James & Young の説を裏付ける結果ともなった。芽胞殻全体にたいする芽胞殻および各分画の乾燥重量比は1551菌のばあいの約1/2であり、リンは R-Fr に濃縮される傾向もなく、R-Fr では1551菌の約1/4であった。また R-Fr は Hexosamine 含量、アミノ酸組成においても、1551菌のそれとはかなりの差がみられた。一方 A-Fr は pH 4 付近に等電点をもつ酸性蛋白成分であり、P-Fr も個々のアミノ酸の量比が1551菌とやや異なっていたが、Half-Cystine を多量に含有し、Keratin 様物質を含むことは1551菌とは変りがなかった。

以上(1)、(2)から、少なくとも *B. megaterium* に属する芽胞殻は2層からなり、外層は芽胞の種類により、形態的にも化学的にも異なっているが内層は芽胞の種類に関係なく、類似構造をもち、繊維構造を示す Keratin 様物質 (P-Fr) とその間げきを充てんする形で存在する酸性蛋白成分 (A-Fr) とから構成されていることが明らかとなった。

(3) 発芽による *B. megaterium* QM B 1551 および *B. megaterium* ATCC 19213 の芽胞殻の変化

1551菌は Glucose と KNO_3 により、19213菌は L-Alanine と Inosine により、第1段階だけ発芽させ、発芽芽胞について静止芽胞と同様の方法で芽胞殻を分画分析し、静止芽胞の結果と比較検討した。

1551菌の芽胞殻乾燥重量は発芽により、40%減少し、その比率で芽胞殻も減少した。芽胞殻の各分画についてはアミノ酸組成には変化がなかったが A-Fr が著しく減少しており、この部分が発芽時に最も大きな変化を示すことが明らかとなった。この A-Fr の流出は発芽分泌物として既に知られている Dipicolnic acid や Cortex 由来の Mucopetide, Hexosamine, アミノ酸などととも A-Fr と類似のアミノ酸組成をもつ成分が検出されること、および発芽芽胞においては A-Fr を除去する操作を行なわなくとも内層部に繊維構造が認められることから裏付けられた。P-Fr においてはアミノ酸組成には変化がなかったが乾燥重量の減少がわずかにあり、X線回折の結果からも結晶性成分の消失が推定され、さらに芽胞表面の Disulfide 結合の開裂が発芽に関係するという報告などから、P-Fr も同じ内層の A-Fr とともに発芽に重要な役割を演じていることが考えられた。外層は発芽により切断部が生じたが、R-Fr はリン含量、アミノ酸組成、乾燥重量比のいずれにおいても変化がみられず、R-Fr は発芽には本質的な関係はなく、芽胞の単なる構造成分であると考えられた。

19213菌においても発芽により、芽胞および芽胞殻重量が減少したが、1551菌のように A-Fr のみが多量に減少することではなく、A-Fr と R-Fr が比較的多く減少した。R-Fr も減量することは発芽時に19213菌の芽胞殻が溶解して薄くなるという Rode の観察結果を裏付けるものである。またリン含量においても19213菌の R-Fr は発芽により、多少の差がみられ、1551菌の R-Fr とは発芽においても異なった挙動を示した。A-Fr の減少量は1551菌に比して小さかったが、発

芽胞を直接アルカリ抽出すると容易に A-Fr が抽出されることから、A-Fr は発芽により流出しなくとも、少なくとも遊離状態に近い形に移行していることが明らかとなり、19213 菌においてもこの内層部が発芽により、最も大きな変化をおこす場であることが明らかとなった。

結 論

B. megaterium に属する 1551 菌および 19213 菌の芽胞殻をそれぞれ特徴的な性質をもつ 3 分画、すなわち A-Fr, P-Fr, R-Fr に分離し、電顕観察および化学的、物理的分析を行ない、両芽胞の芽胞殻の形態構造と化学構造の関連ならびにそれらの発芽による変化を検討した。

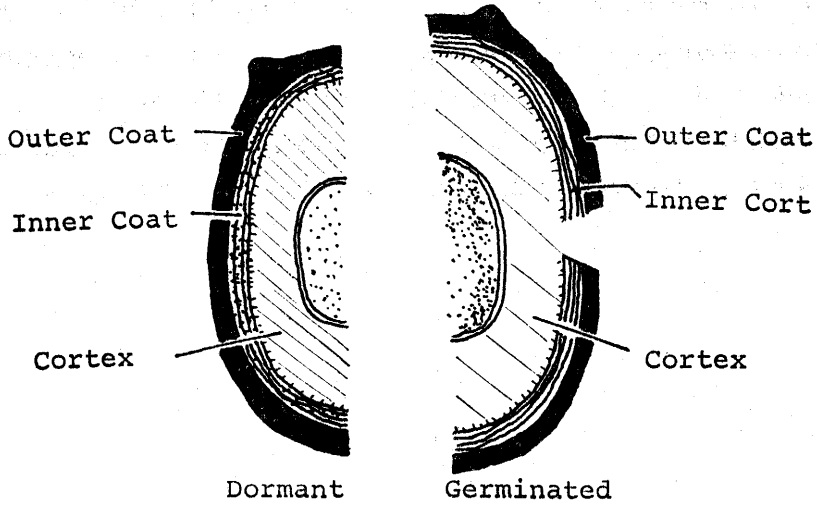
i) 1551 菌、19213 菌ともに芽胞殻は 2 層からなり、外層は R-Fr からなり、両芽胞において形態的にも化学的にも差があるが、内層は類似しており、繊維構造を示す P-Fr と P-Fr の間げきを充てんする形で存在するの A-Fr 組み合わせから構成されていることを明らかにした。

ii) 1551 菌の R-Fr はリン、Hexosamine、アミノ酸を含み Galactosamine を含む Phosphomucopeptide と推察されたが、19213 菌の R-Fr はリンおよび Hexosamine 含量が低く、アミノ酸組成も異なり、1551 菌の R-Fr とは異なった物質であった。A-Fr は両芽胞ともに pH 4 付近に等電点をもつ酸性蛋白成分であり、P-Fr は両芽胞において一部のアミノ酸の量比が異なるが、両芽胞ともに Half-Cystine 含量が高く、また X 線回折、溶解性、免疫反応などの結果からも Keratin 様物質を含むことが明らかとなった。したがって内層成分には両芽胞に共通した部分が多いことがわかった。

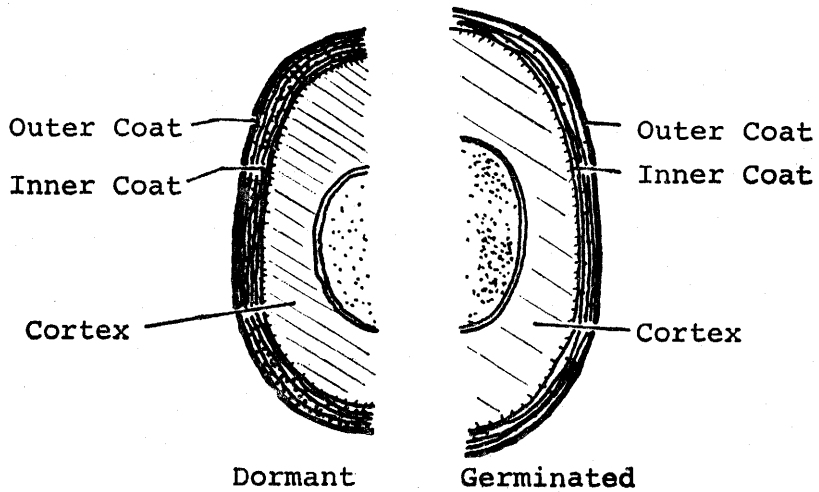
iii) 発芽による変化として 1551 菌の場合は A-Fr の大部分が発芽分泌物として芽胞外に流出することが、また 19213 菌のばあいも A-Fr の一部は流出し、残存する A-Fr も遊離状態に移行していることが明らかとなり、発芽の第 1 段階が Disulfide 結合を多く有する P-Fr と関連して芽胞殻内層においておこることが認められた。これら内層の変化は芽胞殻の透過性の変化と考えられ、芽胞の発芽のみならず、芽胞特有の休眠性や抵抗性の発現においても芽胞殻内層が重要な役割を演じていることを示唆するものである。

以上を模式化すると次頁の図のようになる。

Diagrammatic Cross-Section of Dormant and Germinated
Spore of *B. megaterium* QM B1551



Diagrammatic Cross-Section of Dormant and Germinated
Spore of *B. megaterium* ATCC 19213



論文の審査結果の要旨

Bacillus megaterium QM B 1551 および *B. megaterium* ATCC 19213 の芽胞殻ならびにその発芽時の芽胞殻の変化をアルカリ可溶可溶区分・パラクリスタル区分・酵素処理残存区分に分画し電顕像を対照しつつ各区分の物理的性質とともに化学的性状を明らかにした。両種の菌の芽胞殻の外層は酵素処理残存区分から形成され、形態学的にも差があったが内層には共通した面が多く発芽機構との関連が解明された。本論文は薬学博士の学位を授与するに値するものにみとめる。