



|              |                                                                                                                                                 |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | Megacin immunityについて                                                                                                                            |
| Author(s)    | 越智, 隆弘                                                                                                                                          |
| Citation     | 大阪大学, 1971, 博士論文                                                                                                                                |
| Version Type |                                                                                                                                                 |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/30265">https://hdl.handle.net/11094/30265</a>                                                             |
| 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、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>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

【 1 】

|               |                                                     |
|---------------|-----------------------------------------------------|
| 氏 名・(本 籍)     | 越 智 隆 弘                                             |
| 学 位 の 種 類     | 医 学 博 士                                             |
| 学 位 記 番 号     | 第 2 2 2 2 号                                         |
| 学 位 授 与 の 日 付 | 昭 和 4 6 年 3 月 2 5 日                                 |
| 学 位 授 与 の 要 件 | 医学研究科病理系<br>学位規則第 5 条第 1 項該当                        |
| 学 位 論 文 題 目   | Megacin immunity について                               |
| 論 文 審 査 委 員   | (主査)<br>教 授 天野 恒久<br><br>(副査)<br>教 授 近藤 宗平 教授 吉川 秀男 |

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

Bacillus megaterium strain 216はUVその他の mutagen による induction によって bacteriocin 即ち megacin を産生する。当教室の尾崎等は megacin A の本体が phospholipase A である事を明らかにし (Biken J. 9. 201. 1966)、越智等は更にそれが磷脂質の $\beta$ 位の脂肪酸エステルを切る、phospholipase A2 である事を明らかにした (昭和45年細菌学会関西支部会)。B. meg.216 に由来する megacin 産生能の著しく低下した変異株は親株に比べ megacin に対する感受性が強く megacin 非産性株のB. meg. KMは更に megacin に対する感受性が強い。このような megacin 産生能と、megacin に対する感受性との相関関係は所謂 megacin immunity と言われているが、そのメカニズムを明らかにする為、以下の研究を行った。

〔方法ならびに成績〕

- 1) 突然変異株の分離 N. G. を用いて megacin low producers (more sensitive mutants)、及び megacin less sensitive mutants を分離した。
- 2) Protoplast の実験 megacin は sensitive strain の protoplast-lysis を引き起こすが、各種 strain の protoplast の megacin による溶解易さは、spt test による菌の growth の阻止と平行している。即ち、spot test による more sensitive mutants の protoplast は親株のものより溶解易く、spot test による less sensitive mutants の protoplast は親株のものより溶解難かった。しかし、それらの protoplasts を用いハブ毒の phospholipase A2 による protoplast-lysis を調べたが、この時、夫々の strain に protoplast の溶解易さの差を認め得なかった。
- 3) Megacin inhibitor 産生 B. meg.216 及びそれより分離した夫々の mutants が logarithmic growth phase の終りから stationary phase にかけて培養上清中に megacin inhibitor を産生している事を見出した。培養上清中に出される megacin inhibitor の量は、more sensitive mutants

<parent strain < less sensitive mutants で megacin non-producer である。B. meg. KM は megacin inhibitor を産生していなかった。

4) Megacin inhibitor の部分的精製 early stationary phase の培養上清を用い硫酸80%飽和による沈澱、DEAE cellulose chromatography によって megacin inhibitor を部分的精製した。

5) Megacin inhibitor の化学的性質 部分的精製した megacin inhibitor 分画にはRNA の存在が明らかになったが、更に研究を進めた結果、megacin inhibitor はRNA とは関係がないものと思われる。megacin inhibitor は trypsin 処理による活性の低下は認められなかったが、heat labile であることから、protein である事が最も考えられる。

6) Megacin inhibitor の作用

i) megacin inhibitor は megacin による溶菌作用を抑制すると同時に megacin による protoplast-lysis をも抑制する。

ii) megacin inhibitor が phospholipase A2 作用の inhibitor である事をレシチン加寒天で溶血作用の抑制、薄層クロマトグラフィーによる分析、 $^{14}\text{C}$ -phosphatidyl ethanolamine よりの megacin による脂肪酸遊離の抑制などで証明した。

iii) megacin inhibitor はハブ毒の phospholipase A2 作用は抑制し得ず、megacin の phospholipase A2 作用に対する specific inhibitor であった。

#### 〔総 括〕

Bacillus megaterium strain 216 及びそれに由来する mutants の持つ megacin immunity を決定する大きな要因は、菌自身が growth に伴って産生する megacin inhibitor であると考えられる。megacin A は細胞膜の主要構成成分である磷脂質を分解し溶菌を起こさせる特異な bacteriocin であるが megacin inhibitor は megacin の phospholipase A2 作用の specific inhibitor である。megacin inhibitor の化学的性質はまだ明らかではないが、蛋白質である事が最も考えられる。protoplast の level で、尚存在する megacin immunity を細胞膜の磷脂質の化学構成に帰因させ得ない事（昭和45年 細菌学会関西支部会、越智等の発表）なども考えあわせると megacin inhibitor が細胞膜に存在して megacin immunity を決定している事が十分考えられる。

#### 論文の審査結果の要旨

phospholipase A2 なる酵素作用がその本態である事の証明された megacin A の産生菌が、自ら作った megacin に比較的非感受性であるという現象——これを megacin A immunity と名付けている——を研究し、その産生菌216株より得た感受性の異なる特異的（可逆的）阻害物質がその非感受性の度合に大体比例して産生される事を知った。

この阻害物質が megacin A immunity に関与する——少なくとも一つの——因子であるとの考えを支持する証拠をあげていて、学位論文にふさわしいすぐれた業績であると考えられる。