

Degradation Pathways of Arginine and Related Compounds in Acetinomycete-related Bacteria

メタデータ	言語: English 出版者: 公開日: 2008-02-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 金桶, 光起 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/2356

氏 名 (本 籍)	金 桶 光 起 (岐阜県)
学 位 の 種 類	博士 (農学)
学 位 記 番 号	農博甲第15号
学 位 授 与 年 月 日	平成6年3月14日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当
研 究 科 及 び 専 攻	連合農学研究科 生物資源科学専攻
研究指導を受けた大学	信州大学
学 位 論 文 題 目	Degradation Pathways of Arginine and Related Compounds in Acetinomycete-related Bacteria.
審 査 委 員	主査 信州大学教授 寄藤高光 副査 信州大学助教授 清水英一 副査 信州大学教授 黒沢辰一 副査 岐阜大学教授 堀津浩章 副査 静岡大学教授 山田雄三

論 文 の 内 容 の 要 旨

本論文は、放線菌類縁細菌のコリネ型細菌 *Arthrobacter globiformis* と *Brevibacterium helvolum* (1), およびノカルジオ型細菌 *Nocardioides simplex* (2)を用い、タンパク質の構成アミノ酸である L-アルギニン, および関連する L-オルニチン, L-シトルリン, D-アルギニン, アグマチン, プトレシンの資化分解の経路と関与する酵素を以下のように明らかにした.

A. globiformis と *B. helvolum* が L-オルニチン, L-シトルリン, D-アルギニンに生育するとき, アルギニンオキシゲナーゼ経路 (OG経路) の酵素が誘導され, 特に3段目を触媒するグアニジノブチラーゼが強く誘導された. グアニジノ酪酸はこの酵素以外の OG経路の酵素を誘導しなかった. これはこの酵素の直接の誘導物質がグアニジノ酪酸であることを示した. アルギニン関連アミノ酸がこの酵素を誘

導することは、これらが 0G 経路でグアニジノ酪酸に転換されることを示唆する。アルギニンアミノトランスフェラーゼが *N. simplex* で報告されているが、この酵素はこれらの菌で L-アルギニ、L-シトルリン、L-オルニチン、D-アルギニンによって、0G 経路の酵素と同時に誘導された。これはこの酵素反応で始まる経路が放線菌類縁細菌にある程度広く分布することを示している。

0G 経路がアルギニン関連アミノ酸の分解に関与することは、経路の特定の酵素の特異的阻害剤アミノオキシ酢酸、チオグリコール酸、ガバクリンなどを用い、経路の中間体である 4-アミノ酪酸や尿素の蓄積、およびその量の変化を観察した実験から直接示された。またこの実験は L-アルギニン分解の主経路が 0G 経路であることを示したほか、L-シトルリンに生育した *A. globiformis* 菌体が高レベルのアルギニノコハク酸リアーゼ活性を含むとの酵素の生産利用についての有用な結果をもたらした。*N. simplex* を用いた同様の実験は、この菌のアルギニン関連アミノ酸の分解が他の 2 株とほぼ同様であることを示した。

本研究はさらにアグマチンおよびプトレッシン分解経路を検討した。アグマチンとプトレッシンはグラム陰性細菌に分布するアルギニンデカルボキシラーゼ経路の中間体である。本研究で用いた 3 株はアグマチンを資化したが、このデカルボキシラーゼは生産しなかった。2 種のコリネ型細菌はアグマチンを 4-アミノ酪酸（オキシゲナーゼ経路の中間体の 1 つ）に分解し、その中間体（カルバモイルプトレッシン、プトレッシン、4-アミノブチルアルデヒド）は蛍光性 *Pseudomonas* 属菌の経路と同一であった。しかしプトレッシン分解酵素は *Pseudomonas* 属菌では 2-ケトグルタル酸を受容体とするアミノ基転移酵素なのに対し、コリネ型細菌ではプトレッシンオキシダーゼであった。このようにこの経路はアグマチン分解経路としては新規なものである。

N. simplex はアグマチン、カルバモイルプトレッシン、およびプトレッシンを分解利用した。これらに生育した菌体はコリネ型細菌でアグマチン分解に関与する

酵素を含まず、アグマチンはグアニジノブチラーゼを強く誘導した。酵素の検索の結果、アグマチンはピルビン酸を特異的アミノ基受容体とするアミノ基転移酵素の作用で、まず4-グアニジノブチルアルデヒドに、さらにNAD⁺依存のデヒドロゲナーゼによってグアニジノ酪酸に転換されることが判明した。これらの酵素はブトレッシンを4-アミノブチルアルデヒドを経て4-アミノ酪酸に転換する2種の酵素と同一であることが精製酵素の基質特異性から証明された。これらの酵素の性質は、第1段目の酵素がジアミノプロパンアミノトランスフェラーゼ、第2段目の酵素がアミノブチルアルデヒドデヒドロゲナーゼと呼ぶべき酵素であることを示した。ここで判明した経路は、従来他の細菌には知られていない新規なものである。

文献:(1), M. Kaneoke *et al.* Biosci, Biotech, Biochem., 57, 814-820 (1993);
(2), M. Kaneoke *et al.* Biosci, Biotech, Biochem., 58, 244-249 (1994).

審 査 結 果 の 要 旨

本論文は、菌種としてグラム陽性細菌の中の1つの系統を形成している放線菌類縁細菌 Arthrobacter globiformis, Brevibacterium helvolum, Nocardioides simplex を用い、生育基質としてL-アルギニンおよびその関連化合物を用いて、これらの分解代謝経路を主として酵素化学的な方法によって研究した結果を記述している。アミノ酸など生体成分の生合成経路は微生物、動植物を通じてほぼ共通しているのに対し、分解経路は細菌界で多様化していることが近年知られるようになった。この分野の研究から細菌の系統学分類学、および代謝経路や関与する酵素の進化にかかわる重要な情報がもたらされることが期待されている。

細菌によるL-アルギニンの分解代謝経路は大別して7種類知られている。これまでに、放線菌と放線菌類縁細菌の中のコリネ型細菌 (A. globiformis, B. helvolum など) にアルギニンオキシゲナーゼ経路が知られ、ノカルジオ型細菌 (N. simplex) にアルギニンアミノトランスフェラーゼ経路が知られていたが、両経路の分布や両者の関係については明かでなかった。本研究は第1に、これらの細菌各菌株に両経路が存在すること、第2にその中でオキシゲナーゼ経路が主経路として働いていること、また第3にコリネ型細菌はL-アルギニン生合成の中

間体であるL-オルニチンおよびL-シトルリンを分解して栄養として利用することができ、その際これらのアミノ酸の一部はL-アルギニン生合成経路を構成する酵素によってL-アルギニンに転換されてから、主としてオキシゲナーゼ経路で分解されること、D-アルギニンもオキシゲナーゼ経路で分解されることを明かにした。*N. simplex*ではL-シトルリン、D-アルギニンについて同様の結果が得られている。これらは、細菌のL-アルギニン代謝の分野に新しい知見を加えるものである。

さらに本研究は、これらの細菌によるアグマチンの分解についても新しい知見を得ている。アグマチンはアルギニン脱炭酸酵素に始まるアルギニンデカルボキシラーゼ経路（腸内細菌とその類縁菌に分布）の中間体である。本研究は、この酵素が放線菌類縁菌に欠けていることを再確認した上で、第1に、コリネ型細菌ではアグマチンがカルバモイルブトレッシン、ブトレッシン、アミノブチルアルデヒドを経て γ -アミノ酪酸に分解されてオキシゲナーゼ経路に合流することを明かにした。蛍光性 *Pseudomonas* 属菌に類似の経路が報告されているが、コリネ型細菌では経路の第3段目を触媒する酵素がブトレッシンオキシダーゼである点がユニークである。また第2に、*N. simplex*ではアグマチンとブトレッシンがそれぞれオキシゲナーゼ経路の中間体であるグアニジノブチルアルデヒドとアミノブチルアルデヒドに転換されること、これらの反応はピルビン酸をアミノ基受容体とする同一のアミノトランスフェラーゼで触媒されることを明らかにした。このアグマチン分解経路は、他の細菌に見出されている経路とは生化学的に著しく異なる新しいタイプのものである。

以上のように本論文の内容は、細菌の分解代謝多様性の研究分野に新しい明確な知見を加えるものであり、博士の学位に相当するものと認める。