

論文内容の要旨

本論文は、ビタミン B₆ (B₆) の生合成経路を解明するために Bacillus subtilis をもちいて生化学的、分子生物学的に研究を行った結果である。

B₆ の生合成についてはこれまで微生物をもちいて多くの研究が行われてきた。特に、Escherichia coli によって得られた知見は遺伝子と対応した生合成経路が提案されるに至っている。しかしながらそれに対する生化学的な裏付けは無くいまだ推定の域を出ていない。一方、種々の微生物でそれぞれ異なる生合成機構の存在も示唆されている。

このような背景の下に、まず B. subtilis をもちいて B₆ 要求性変異株の誘導を試みたが成功しなかった。そこで他の微生物で得られている知見に基づいて研究を行い以下の結果を得た。

E. coli で B₆ 生合成前駆体として明らかにされているグリコールアルデヒドを生成する脱水素酵素について精製を行いその性質を検討したところグリコール酸の還元活性は認められなかった。また、グリオキサールからグリコールアルデヒドを生成する酵素の関与も否定された。これらの結果より、グリコールアルデヒドは B. subtilis では B₆ 生合成の前駆体ではないと結論した。

E. coli で生合成前駆体のひとつとして考えられているヒドロキシトレオニンの生合成に関与する serC および tkt についてそれぞれ遺伝子破壊株を誘導し B₆ 生合成との関連について検討した。いずれの変異株も B₆ 要求性を示さず、また、親株と変わらない B₆ 生産能を示し、B. subtilis におけるそれらの遺伝子の B₆ 生合成への関与は否定された。つづいて、B₆ 生合成への関与が示されているデオキシキシルロースについて、その生合成と代謝に関与する yqiE, yluB の遺伝子破壊株、条件付変異株を誘導して同様に検討したがいずれの遺伝子についても B₆ 生合成への関与は否定された。

このように、B. subtilis の B₆ 生合成経路は、前駆体および代謝系ともに E. coli と異なることが明らかとなった。

そこで 2, 3 の微生物で B₆ 生合成への関与が示唆されている yaaD および yaaE について検討した。その結果、それぞれの遺伝子破壊株はいずれも B₆ 要求性を示した。この結果は、B. subtilis においてはじめて B₆ 生合成に関与する遺伝子を明らかにしたものであり、YaaD および YaaE の解析による B. subtilis における B₆ 生合成経路の解明に道が開かれた。

論文審査結果の要旨

ビタミンB₆ (B₆)はアミノ酸代謝の補酵素など多彩な代謝機能をもちまた比較的簡単な化学構造であるにもかかわらず、その生合成経路はながらく不明であった。最近、これまでの研究で中心的にもちいられてきた Escherichia coli による成果により推定経路の提案がされるに至っている。しかしながら E. coli においてさえ複数の経路の存在が指摘されその全貌の解明は緒についたばかりである。

本論文は、当時ゲノム解析が急速に進みつつあった Bacillus subtilis に着目し B₆ 生合成経路の解明に着手し、その成果を活用しながら研究を進めた、その結果、E. coli で想定されているそれとは異なる生合成経路が存在することを明らかにし、B₆ 生合成研究に重要な成果を挙げたものである。

E. coli によるこれまでの主な成果は、グリコールアルデヒドが B₆ の前駆体として希釈なしに取り込まれること、グリコール酸の還元により生成すること、ヒドロキシスレオニンおよびデオキシキシルロースが生合成経路に含まれそれらの生合成に serC, tkt および yqiE, yluB がそれぞれ関与することなどである。

本論文では、まずグリコールアルデヒド脱水素酵素を細胞内に共存する NADH/NADPH 酸化酵素を遺伝子破壊株により除去しその精製に成功することにより本酵素がグリコールアルデヒドの生成に関与していないことを明らかにした。ついで、別のグリコールアルデヒド生成に関与する可能性のあるグリオキサール還元酵素についてもその B₆ 生合成への関与を否定した。serC, tkt についてはそれぞれの遺伝子破壊株、yqiE, yluB については条件付変異株をそれぞれ誘導し、それらが B₆ 要求性を示さないことおよび B₆ 生合成量が親株と変わらないことから B₆ 生合成への関与を否定した。以上の結果は、B. subtilis の B₆ 生合成経路は E. coli と全く異なることを初めて明らかにしたものである。

ついで、最近 Cercospora nicotianae, Aspergillus nidulans で B₆ 生合成への関与が示唆された yaaD, yaaE についてそれぞれ遺伝子破壊株を誘導しそれらが B₆ 要求性を示すことから、B. subtilis においてはじめて B₆ 生合成遺伝子の同定することに成功した。

以上のように、本論文は B₆ 生合成経路解明に重要な新しい知見を得たもので、学術上さらには応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。