

氏名	増 田 邦 義		
学位(専攻分野)	博 士(農 学)		
学位授与番号	博 乙 第 2571 号		
学位授与の日付	平成 5 年 3 月 28 日		
学位授与の要件	博士の学位論文提出者 (学位規則第 4 条第 2 項該当)		
学位論文題目	Studies on Regular Arrays in the Cell Walls of the Genus <i>Lactobacillus</i> <i>Lactobacillus</i> 属菌の細胞壁の規則的配列構造に関する研究		
論文審査委員	教授 田野 達男	教授 田中 英彦	教授 多田 幹郎
	教授 井上 成信	教授 土屋 友房	

#### 学 位 論 文 内 容 の 要 旨

数種の *Lactobacillus* 属菌の細胞壁外層に規則的配列構造 (RA) が存在することを電子顕微鏡的に見出したので、その超微構造、化学、分離と再構成、細胞壁下層との相互作用及び形態形成、更に、RA の分類学的意義について研究し、以下の点を明らかにした。

*L. brevis* 及び *L. buchneri* の RA は、それぞれ、四角及び六角形配列をなし、分子量 51 及び 55 kDa の単一の蛋白質より構築されていた。RA は隣接するサブユニット蛋白質間の水素 (疎水) 結合によって構築されており、また、RA 蛋白質は、下層の中性多糖体分子中の過ヨウ素酸化に抵抗性的水酸基との間の水素 (疎水) 結合を介して細胞壁下層に付着していることを明らかにした。サブユニット蛋白質の RA への形態形成及び細胞壁下層への付着には、サブユニット蛋白質のアミノ基の + 荷電とカルボキシル基の - 荷電が共に重要な役割を果たしていることも明らかにした。*Lactobacillus* 属菌において RA 産生は概ね菌種特異的であったが、*L. acidophilus* においては、RA 産生株は全て DNA 相同性 A 群に、非産生株は B 群に属し、さらに、A1 亜群の RA 蛋白質は均質で、その他の A 亜群のそれとは性状が全く異なっていたので、RA 及び RA 蛋白質は本菌種の分類の指標となり得ることを明らかにした。

以上の如く、本研究は *Lactobacillus* 属菌における RA の本態を解明し、また、その分類学的意義を明らかにしたものである。

## 論文審査の結果の要旨

電子顕微鏡（電顕）が開発されて以来、多くの細菌種の超微形態学的性状が研究されているが、原核細胞においては、細胞内部には認識できる構造が非常に少ないために、細胞表層構造に焦点が当てられている。細菌細胞の表層構造のうちで最も注目されるものの一つは蛋白質より構築されている細胞壁外層の規則的配列構造（RA）である。本論文は、食物微生物として、また、ヒトおよび動物の腸内の常在細菌叢の構成細菌として重要な位置を占める *Lactobacillus* 属の数菌種の細胞壁外層に蛋白質のサブユニットより構築されるRAを電顕的に見出したので、その超微形態学的・化学的性状・細胞壁内層との相互作用および形態形成を解明すると共に、RAの分類学的意義を示したものである。

*Lactobacillus buchneri* と *Lactobacillus brevis* を主な実験材料として選び、フリーゼエッチング法、超薄切片法およびネガティブ染色法を駆使した電顕的観察と電顕像の光回折法による解析によって、両菌のRAが、それぞれ、六角形および四角形配列をなしていることを明らかにした。

次いで、RAサブユニット蛋白質のRAへの再構成及びRA除去細胞壁（細胞壁内層）への再付着を研究することによって、隣接するRAサブユニット蛋白質間およびRA蛋白質と細胞壁内層との間の結合様式が水素あるいは疎水結合であることを見出した。

特定の構成成分を抽出除去した細胞壁内層、化学修飾した細胞壁内層および異種の細菌の細胞壁へのRA蛋白質の再付着を研究することによって、細胞壁内層の中性多糖体分子中の過ヨウ素酸化に抵抗性の水酸基が、RAサブユニット蛋白質が内層へ付着するために相互作用する部位であることを解明した。また、化学修飾したRAサブユニット蛋白質の再構成と細胞壁内層への再付着実験の結果から、RAの形態形成にはRAサブユニット蛋白質の本来の荷電、アミノ基の陽性荷電とカルボキシル基の陰性荷電が共に必須であることを明らかにした。

さらに、*Lactobacillus acidophilus* において、DNA相同性AおよびB群とRA産生性の間には相関があることを明らかにすると共に、DNA相同性A1亜群菌株は、RA蛋白質の *Staphylococcus aureus* V8プロテアーゼによる限定分解後のペプチドマップのパターンを比較することによって、その他の亜群菌株と鑑別できることを明らかにし、RAの産生性とRA蛋白質の性状が本菌種の分類の指標となり得ることを示した。

以上のように、本論文は *Lactobacillus* 属菌におけるRAの諸性状を、電顕的方法と化学的方法を巧みに組み合わせた手法によって形態学的・化学的に解明し、また、*L. acidophilus* におけるRAの分類学的意義をも明らかにしたものであり、本審査会は本論文が博士（農学）の学位に値するものと判定した。