

紅色非硫黄細菌のアミノ酸及び関連化合物の資化性

大 島 敏 久, 岩 田 史 子, 大 島 松 美 *

Utilization of Amino Acids and the Related Compounds by Purple Nonsulfur Phototrophic Bacteria

Toshihisa Ohshima, Fumiko Iwata and Matsumi Ohshima *

抄録 3種の代表的な紅色非硫黄細菌, *Rhodopseudomonas capsulata*, *Rhodopseudomonas sphaeroides*, *Rhodospirillum rubrum* の明嫌気生育条件下におけるアミノ酸及び関連化合物の資化性を調べた。これらの細菌はL-アラニン, L-セリン, L-スレオニン, β -アラニン, γ -アミノ酪酸のような炭数3, 4のアミノ酸を利用して生育した。またL-アスパラギン, L-アスパラギン酸, L-グルタミン酸, L-プロリン, L-オルニチン, L-シトルリン及びD-アラニン, D-グルタミン酸のようなD-アミノ酸でも良好な生育が認められた。L-グルタミン, L-ヒスチジン, L-ヒドロキシプロリン, D-アスパラギン酸では, これらの紅色非硫黄細菌のあいだで資化性の違いが認められた。

索引語 アミノ酸の資化性, 紅色非硫黄細菌, 光合成細菌

Abstract. Utilization of amino acids and the related compounds under anaerobic light condition by 3 species of the purple nonsulfur bacteria, *Rhodopseudomonas capsulata*, *Rhodopseudomonas sphaeroides* and *Rhodospirillum rubrum* was studied. These bacteria grew well in the medium containing L- alanine, L- serine, L- threonine or β - alanine, which is carbon 3 or 4- amino acid. In addition, L- asparagine, L- aspartate, L- glutamate, L- proline, L- ornithine, L- citruline and D- amino acids such as D- alanine and D- glutamate were also utilized. The difference in the utilization of L- glutamine, L- histidine, L- hydroxyproline and D- aspartate was observed among the three species of the phototrophic bacteria.

Key Words. utilization of amino acids ; purple nonsulfur bacteria ; phototrophic bacteria.

(* 親和女子大非常勤講師)

緒 言

グラム陰性菌で光エネルギーを利用して光合成的に生育できる光合成細菌は、水田、河川、湖沼、海水、下水処理場などの水圏に普遍的に分布して、自然界の炭素、窒素、硫黄などの物質循環に重要な役割を演じている^{1, 2)}。光合成細菌が行う光合成は高等植物や藻類とは異なり光化学系Ⅱが存在しないために、水を還元力（電子供与体）として利用することができない。このため光合成細菌が光合成によって生育する場合には、電子供与体として水の代わりに水素ガス、硫化水素、チオ硫酸塩、低級脂肪酸などの低分子の有機物質を利用する。どの物質を利用するかは菌の種類や生育条件により異なっている。光合成細菌のなかで紅色非硫黄細菌 (Purple nonsulfur bacteria または Rhodospirillaceae) は明嫌気生育条件下では有機物質を電子供与体、及び炭素源としても利用できる。また本菌は暗好氣的条件下では有機物質を分解して呼吸で生育し、窒素固定、脱窒、醗酵など多様な方法で生育できる特徴を持っている³⁾。紅色非硫黄細菌の有機物質の代謝などに関する生理、生化学的研究をはじめ、有機物質の分解能を利用した有機廃水処理や、その結果できる菌体の有効利用などの応用面の研究も行われている^{4, 5)}。しかし有機廃水などに含まれ、電子供与体、炭素源、窒素源のいずれにもなりうるアミノ酸の利用については、グルタミン酸、アラニン、アスパラギンなど数種類について、断片的に明らかにされているにすぎない^{3, 6)}。

本研究では3種類の代表的な紅色非硫黄細菌である *Rhodopseudomonas* (*Rps.* と略す) *capsulata* (または *Rhodobacter capsulatus* と呼ぶ)、*Rps. sphaeroides*, *Rhodospirillum* (*R.* と略す) *rubrum* の明嫌気条件下におけるアミノ酸及び関連化合物の資化性について明らかにした。

実 験 方 法

紅色非硫黄細菌のアミノ酸及びその関連化合物の資化性は、表1に示す合成基礎培地に、それ

表1 基礎培地の組成

アミノ酸及び関連化合物	10	m M
M g S O ₄ · 7 H ₂ O	0.2	g
C a C l ₂ · 2 H ₂ O	0.07	
K ₂ H P O ₄	0.9	
K H ₂ P O ₄	0.6	
微量元素 ⁷⁾	40	m l
Thiamine	1	m g
Biotin	20	μ g
Nicotinic acid	1	m g
3 N · NaOH で pH 6.8 に調節後、精製水で 1 l にする。		

ぞれの化合物 (10 m M) を炭素源かつ窒素源として加えた液体培地を用い、その生育度 (増殖能) によって評価した。培養はネジ栓付き試験管 (容量: 約 15 ml) に培養液を満たし、28~30℃に保

温した水槽中で、60ワットの白熱電球を照射（約3000 lux）して、明嫌気条件下で行われた。前培養には合成基礎培地にアミノ酸の代わりに0.5% D-リンゴ酸（炭素源）及び0.12% NH_4Cl （窒素源）を加えた培養液を用いた。次に前培養液1 mlをピペットで採取し、第一回目の本培養用試験管に植菌した。この培養は前培養液のD-リンゴ酸及び NH_4Cl が炭素源、窒素源として、次の第二回目の本培養に影響を与えることを避けるために行う。第一回目の本培養を10日間行った後、その培養液1 mlを第二回目の本培養用試験管に植菌し、同様の条件で培養した。その10日間培養後の生育度を660 nmでの濁度（日本分光光度計 UVIDIC -505）により測定した。

供試菌の *Rps. capsulata* 37 b 4 (DSM 938) は西ドイツ・フライブルク大学 G. Drews 教授、*Rps. sphaeroides*（野生株）は九州大学理学部 高宮健一郎助教授、*R. rubrum* IFO 3986は財団法人 醸酵研究所（大阪）より、それぞれ供与された。アミノ酸、関連化合物、ビタミンなどは半井化学（京都）より購入された特級及び一級試薬である。

結 果 と 考 察

紅色非硫黄細菌、*Rps. capsulata*, *Rps. sphaeroides*, *R. rubrum* のL-アミノ酸、D-アミノ酸及びアミンなどの資化性を明嫌気条件下で調べた。表2に見られるように、これらの光合成細菌はL-アラニン、L-セリン、L-スレオニン、 β -アラニン、 γ -アミノ酪酸などの炭素数の少ない（C-3, 4）アミノ酸で良好に生育した。またL-アスパラギン、L-アスパラギン酸、L-グルタミン、L-グルタミン酸、L-プロリンのようにアミノ基転移酵素や脱水素酵素により簡単にトリカルボン酸サイクルの中間物質を生成して代謝されるアミノ酸も利用され、良好な生育が認められた。この結果はL-アスパラギン酸とL-グルタミン酸が紅色非硫黄細菌の生育に炭素源、窒素源として利用される従来の知見と一致する⁶⁾。L-オルニチン、L-シトルリンのような尿素サイクルの構成アミノ酸においても良好な生育が見られた。一方、L-ロイシン、L-バリン、L-フェニルアラニン、L-チロシンなどのような分岐鎖アミノ酸や芳香族アミノ酸、リジンや ϵ -アミノカプロン酸のような炭素数が多いアミノ酸の資化性は認められなかった。これらの光合成菌がD-アラニン、D-グルタミン酸、D-アスパラギン酸（*Rps. sphaeroides* と *R. rubrum*）でも良好な生育を示すことが初めて明らかになり、これらの分解に関与するD-アミノ酸に特異的な酵素の存在が示唆される。*Rps. capsulata* はL-グルタミン、L-ヒスチジン、L-ヒドロキシプロリン、D-アスパラギンを利用できず、これらの資化性に関しては *Rps. sphaeroides*, *R. rubrum* と対照的であった。これは紅色非硫黄細菌のアミノ酸の利用に種特異性が存在する可能性を示唆している。今後、他の光合成細菌のアミノ酸の資化性に関する知見がさらに蓄積されれば光合成細菌の分類や同定にも利用できると考えられる。アミン類の本質的な利用は認められなかったが、第一回目の培養ではエタノールアミンやエチレンジアミンなどで良好な生育が認められた。これは両アミン化合物が窒素源として利用されるが、炭素源としての利用されないことに起因すると予想される。これらについては今後の詳細な研究が待たれる。

本研究により三種の代表的な紅色非硫黄細菌が従来明らかになっているよりも多数のアミノ酸及び関連化合物を炭素源かつ窒素源として利用できることが明らかになった。またそれらの種の間で資化性が異なることも明らかになった。この結果を踏まえ、今後他の多くの光合成細菌のアミノ酸の資化性、暗好気条件下におけるアミノ酸の資化性、アミノ酸代謝及びエネルギー代謝の酵素や調節機構に関する生化学的な解明⁸⁾を行う予定である。

表2 *Rps. capsulata* 37b4, *Rps. sphaeroides*, *R. rubrum* IFO 3986のアミノ酸及び関連化合物の資化性

アミノ酸及び 関連化合物	<i>Rps. capsulata</i>		<i>Rps. sphaeroides</i>		<i>R. rubrum</i>	
	第一回	第二回	第一回	第二回	第一回	第二回
グリシン	+	+	+++	+	++	+
L-アラニン	+++	++	+++	+++	+++	+++
L-セリン	+++	++	+++	+++	+++	++
L-スレオニン	++	+	++	+++	+++	+
L-アスパラギン	+++	++	+++	++	+++	++
L-アスパラギン酸	++	++	+++	+++	++	+++
L-グルタミン酸	+++	+++	+++	+++	+++	+++
L-グルタミン	+	0	+++	+++	+++	++
L-プロリン	+++	+++	+++	+++	+++	+++
L-ヒドロキシプロリン	0	—	+	+++	+++	+++
L-リジン	—	—	—	—	—	—
L-ヒスチジン	0	—	+++	+++	+++	+++
L-ロイシン	0	—	+++	0	+++	0
L-バリン	0	—	+++	0	++	0
L-フェニルアラニン	0	—	+	0	+	0
L-チロシン	0	0	+	+	+	0
L-メチオニン	++	0	++	+	++	+
タウリン	++	0	++	0	++	0
β -アラニン	+++	+++	+++	+++	+++	+++
γ -アミノ酪酸	+++	+++	+++	+++	+++	+++
L-オルニチン	+++	+++	+++	+	+++	+
L-シトルリン	+++	+++	+++	+++	+++	+++
D-アラニン	+++	+++	+++	+++	+++	+++
D-ロイシン	—	—	0	0	0	0
D-アスパラギン酸	0	—	+++	+++	+++	++
D-グルタミン酸	+++	++	+++	+++	+++	+++
D-セリン	0	—	0	—	0	—
D-フェニルアラニン	—	0	—	0	+	0
P-アミノ安息香酸	0	—	0	—	0	—
ϵ -アミノカプロン酸	0	—	++	0	+	0
エタノールアミン	+++	0	+++	0	+++	0
エチレンジアミン	+++	0	++	0	+++	0
エチルアミン	0	—	+	0	0	0
プトレシン	++	0	++	0	++	0

生育度：+++，極めて良好(660 nmの濁度が1.5以上)；++，良好(1～1.5)；+，わずかに生育(0.5～1)；0，ほとんど認められない(0.1～0.5)；—，全く認められない(0.1以下)

参 考 文 献

- 1) N. Pfennig (1978) in "Photosynthetic Bacteria" Ed. by R. K. Clayton and W. R. Sistrom, pp. 3 - 18, Prentice Hall, New York and London
- 2) 星野八洲雄, 北村博 (1984) "光合成細菌" pp. 3-15 (北村博, 森田茂広, 山下仁平編), 学会出版センター (東京)
- 3) 北村博, 丸山厚吉 (1984) "光合成細菌" pp. 47-63 (北村博, 森田茂広, 山下仁平編), 学会出版センター (東京)
- 4) R. C. Fuller (1978) in "Photosynthetic Bacteria" Ed. by R. K. Clayton and W. R. Sistrom, pp. 691-705, Prentice Hall, New York and London
- 5) 小林正泰 (1978) "光合成細菌" pp. 86-99 (発酵工業協会編) 発酵工業協会 (東京)
- 6) H. G. Truper and N. Pfennig (1978) in "Photosynthetic Bacteria" Ed. by R. K. Clayton and W. R. Sistrom, pp. 19-27, Prentice Hall, New York and London
- 7) G. Drews (1965) Zbl. Bacteriol. I Abt., Suppl. Heft 1, 170 - 178
- 8) T. Ohshima and H. Sakuraba (1986) Biochim. Biophys. Acta, **869**, 171 - 177