

農學博士片桐英郎君および農學博士北原覺雄君の「乳酸菌殊に

そのラセミアーゼの研究」に対する授賞審査要旨

本研究は五十七篇の報文より成るが便宜上これを次の三部に分つて説述する。

第一部 乳酸菌の新分類

第二部 乳酸菌糖代謝の研究

第三部 ラセミアーゼの研究

第一部 乳酸菌の新分類

従来、乳酸菌の分類についてはオルラ・エンセン(一九一九)、ヘンネ・ベルグ(一九二六)、ベルジー(一九三四)等の分類があつたが、今日の状況から見れば、いずれも不完全なるを免れない。片桐英郎、北原覺雄両君は分類の基準に在來の項目の他に両君等の研究による(四)、(五)の二項目を加え合わせて次の十項目につき分類を行なつた。

- (一) グラム染色
- (二) 形態
- (三) カタラーゼ反応
- (四) 醱酵形式
- (五) ラセミアーゼの存否
- (六) 糖類の醱酵
- (七) 硝酸塩の還元
- (八) 特殊醱酵生産物
- (九) ゼラチン液化
- (十) 菌の所在

分類に用いた菌種は片桐、北原両君が酒母より得た五十七株、乳製品より得た七十四株、穀類より得た四十六株、フスマ麴より得た一株、合計一七八株であつて、これを九群三十一種に分類したが内七種は片桐、北原両君の新らし

く発見したもので特に火落菌を含むペヂオコックス (*Pediococcus*) 属の研究は特筆すべきものである。この三十一種中に、在来、世界各国の学者により発見せられた一二七株の乳酸菌も統合せられるもので (日本) 乳酸菌譜と称すべきものである。

この分類は上述の如く片桐、北原両君の研究に成る糖の醱酵形式、ラセミアーゼの存否の項目が加わり、分類法は正確となり、従来比較的混沌とした多数の乳酸菌の分類、所属を正確にしたもので乳酸菌の研究上多大の貢献をなしたものである。

第二部 乳酸菌の糖代謝の研究

乳酸菌の六炭糖醱酵は従来次のホモ醱酵型(1)とヘテロ醱酵型(2)との両者に分かれており、従って別々の菌種によつて行なわれるものと考えられていた。



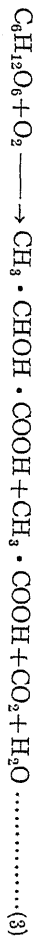
ブドウ糖 乳酸



ブドウ糖 乳酸 アルコール

しかし、この両者は、いずれも嫌氣的醱酵だけを考慮されたもので、その原因も不明であつた。

片桐、北原両君は乳酸菌は振盪培養すなわち好気性培養にも堪えることを見出し、好氣的培養では(1)型の醱酵菌と(2)型の醱酵菌との区別はなくなり、いずれも(3)型の醱酵を行なうことを発見した。

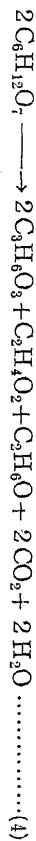


ブドウ糖

乳酸

酢酸

次にグルコン酸を基質として嫌氣的代謝を行なえば(4)型、好氣的代謝を行なえば(5)型の醱酵を営むが、この際もまた使用した菌種がホモ醱酵型であるかヘテロ醱酵型であるかの区別はない。



グルコン酸

乳酸

酢酸

アルコール

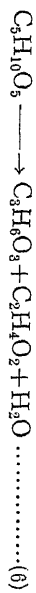


グルコン酸

乳酸

酢酸

更に五炭糖であるキシロースを基質として醱酵を行なう場合にはここでもホモ醱酵型とヘテロ醱酵型との区別はなく、好氣、嫌氣の両場合にも次の(6)式に従つて醱酵の行なわれることを見出した。

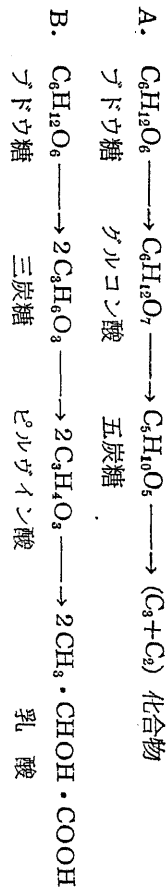


キシロース

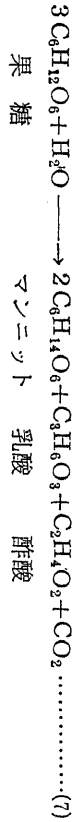
乳酸

酢酸

すなわちホモ醱酵型とヘテロ醱酵型(1)及び(2)式との相違は葡萄糖の嫌氣的代謝の場合にのみ觀察される現象で葡萄糖の好氣的代謝、グルコン酸ならびにキシロースの代謝では両群の乳酸菌は全く同一の性質を示すことを証明した。次にホモ醱酵(1)を除く(2)乃至(6)の醱酵形式でC₂化合物(酒精、酢酸又はその合計)とC₃化合物(乳酸)との生ずる比は常に一対一である。このことは(1)を除く以上五種の醱酵においては、Aの如き順序で醱酵が行なわれ、(1)のホモ醱酵においてはBの如き順序で行なわるべきことを指摘したのである。



なお、ヘテロ醗酵型乳酸菌に果糖の嫌氣的代謝を行なわしめる場合、 α 型菌種は三モルの果糖から二モルのマンニットを生ずることを確定した。



すなわち二モルの果糖は、単に水素の受容者として働くのであるから、分解される一モルの果糖は一モルの葡萄糖で置きかえることが出来る。

第三部 ラセミアーゼに関する研究

一、ラセミアーゼの発見 筋肉乳酸は常はL系右旋性であるが、同じく生物の作用によつて生ずる醗酵乳酸は常にラセミ型(左旋右旋同量混合)なのは久しく疑問とされてたところである。

片桐、北原両君はロイコノストックの一新変種であるL乳酸生成菌、またラクトバチルス・サケの如きD乳酸生成菌を発見し、これらの光学的活性乳酸が、DL乳酸菌によつてラセミ化せられることを発見した。すなわち乳酸はおそらく乳酸菌によつて生成される場合は、光学的に活性であるが、或る種の乳酸菌に含まれる酵素(両君はこれをラ

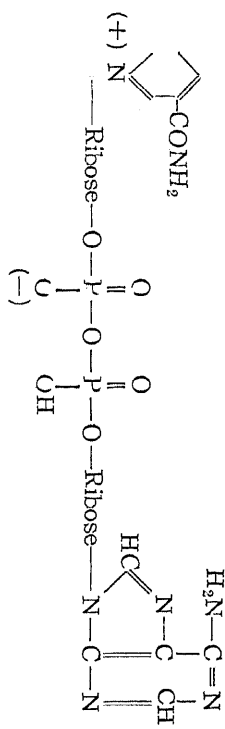
セミアーゼと命名した。〕によつて第二次的にラセミ化せられることを証し、古来の疑問を解決したのである。

ラセミアーゼの酵素たることは、初めD・L乳酸のいづれより出発するも、ラセミ性乳酸を生ずること、トルオール等の細胞毒物の存在においてもその作用を減ぜざること等によつて証明され、ラセミアーゼと命名され（一九三六年）たのであるが、この発見はその後諸外国において発表されたイソメラゼ（一九四〇年時代）およびラセマーゼ（一九五〇年時代）の先駆をなすものである。

ラセミアーゼはすべてのDL乳酸生成菌、アセトンブタノール醗酵菌、スタフィロコッカス・ユレー中にも存することが発見され、なお、乳酸醗酵液中にも存することから、醗酵乳酸の常にラセミ性であるのはこのラセミアーゼを有する乳酸菌の混入によることが証せられる。

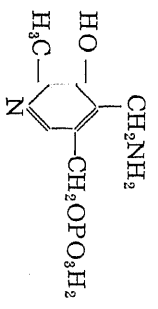
ラセミアーゼの生産はラセミ乳菌の培養条件によつて左右せられる如く、これがまた乳酸生成菌の乳酸の光学性が自然に変化する原因であることが推論される。例えば葡萄酒溶液中でDL乳酸を生産する菌種もアラビノーゼ溶液ではL乳酸を生じ、葡萄酒溶液中でも温度が低下すればDL乳酸の他にL乳酸を生ずる。これは葡萄酒液中ではラセミアーゼが容易に生産せられ、アラビノーゼ中では酢酸の生産によつてラセミアーゼの生産が阻害せられるによるもので培養条件の如何によつて同一の乳酸菌からL乳酸またはDL乳酸またはL+DLを生ぜしめ得られる。

二、ラセミアーゼの性質 (a)乳酸菌のラセミアーゼを取り出すには、乾燥菌を砂と共に磨砕してのち抽出すると収量はよい。これを透析すれば容易に補酵素（アポラセミアーゼ）と助酵素（コラセミアーゼ）とに分かれる。助酵素は、デフォスフォ・ピリジン・ヌクレチッド（D・P・N）であることがわかった。（左式）

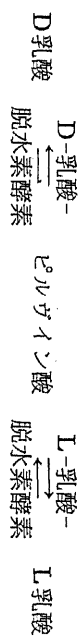


ラセミアアーゼの作用における異常に小さいPPNの turnover number (毎分0.15) および小さい酵素-基質間の親和力 (Michaelis's 恒数 2.5×10^{-2}) は、その作用に多量の D · P · N を要することを示し、また非常に大きい酵素の解離恒数 ($1.2 \times 10^{-4} M$) は透析作業の容易なことを裏付けている。

(b) アセトン・ブタノール醗酵菌のラセミアアーゼは、次の諸点で乳酸菌のラセミアアーゼと異っている。(一) 凡て培養液中に溶存する。(二) これより硫酸で塩析し得る。(三) その作用が第一硫酸鉄で促進され $5 \times 10^{-2} M$ の青酸カリで完全に阻害される。すなわち第一鉄塩が重要な構成成分であることを知る。(四) 更にこの助酵素はピリドキサミン燐酸 (P · A · M · P) であることを知った。(左式) この場合、助酵素は P · A · M · P と Fe^{++} より成ると考えを至当とすべく、両者の比は 1 : 2.5 M であり Fe^{++} は Zn^{++} 又は Cu^{++} で代え得る。



三、ラセミ化の作用 以上二種のラセミアーゼには乳酸脱水素酵素の作用は証明出来ないし、またD乳酸脱水素酵素とL乳酸脱水素酵素とを種々の割合に混合使用しても、乳酸のラセミ化が証明せられないから、従来の説すなわち中間物たるピルヴィン酸にD及びL乳酸脱水素酵素が働いてラセミ性乳酸を作るとの考えは放棄すべきである。



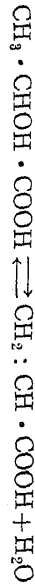
そこで片桐、北原両君はアセトン・ブタノール菌のラセミアーゼを用いた四種の物質に作用せしめたのに初め三者よりはよくラセミ性乳酸を生じたが最後の者からは乳酸を生じなかつた。

- (1) D-乳酸 $\text{CH}_3 \cdot \text{CHOH} \cdot \text{COOH}$
- (2) L-アセト乳酸 $\text{CH}_3 \cdot \text{C}(\text{CO} \cdot \text{CH}_3) \text{OH} \cdot \text{COOH}$
- (3) 乳酸エチル・エステル $\text{CH}_3 \cdot \text{CHOH} \cdot \text{COOC}_2\text{H}_5$
- (4) L-クロル・プロピオン酸エチル $\text{CH}_3 \cdot \text{CHCl} \cdot \text{COOC}_2\text{H}_5$

すなわちラセミアーゼの作用には α のOHと β のHとが存することが必要でこの両者間の脱水によりアクリル酸を生じ、これがラセミアーゼによりラセミ性乳酸となるものであろう。これが片桐、北原両君の提出したアクリル酸説である。

実際アクリル酸を作りこれにラセミアーゼを作用せしめれば、乳酸菌からのものでも、アセトンブタノール菌からのものでも、容易にラセミ性乳酸を生ずるのである。

ラセミアーゼ



乳酸

アクリル酸

但し、光学的活性乳酸菌はD菌、L菌いずれを用いても、アクリル酸から乳酸を生産しない。すらわちアクリル酸はラセミアーゼによるラセミア性乳酸の生産に関係するだけで、一般に糖類から乳酸を作る中間物とは考えられない。これも乳酸のラセミア化に関するアクリル酸説を裏付ける有力な証拠であると考えられる。

これを要するに片桐、北原両君は乳酸菌中にラセミアーゼを発見し、その作用の機構を明らかにし、醗酵乳酸が何故に常にラセミア型であるかの在来の疑問を一掃した。このラセミアーゼの発見は、その後数年間に諸外国で発表されたイソメラーゼ、ラセマーゼの先駆をなすものであつてその学界の進歩に寄与した功績は大きい。加うるに乳酸菌の糖代謝を詳細に研究し、ホモ醗酵型とヘテロ醗酵型との区別は寧ろ醗酵液中に存する酸素の有無に関係すること大なるを証し、この両知見を加えて乳酸菌の分類法を改訂し、百数十に上る菌種を約三十一種に整理統合した。

以上の業績はひとり乳酸醗酵ばかりでなく、醗酵学一般ならびに生物化学の進歩に対しても功績甚大である。