

418

メナキノンの分子種にもとづく *coryneform* および *nocardioform bacteria* の分類について

(静大農化) ○山田雄三, 田原康孝, 近藤圭二

1. 目的. 演者らは, あてに, 酢酸菌および酵母を用いて, 呼吸鎖に関与するユビキノンのあいは *coenzyme Q* の分子種が, それらの微生物の分類同定に有用であることを示した。それによる知見は, a) 酵母には, 自然界に存在するすべてのユビキノンの分子種が見出された。このことは, 酵母の系統発生上の複雑性, ひいては, 分類上の複雑性を示すものである。b) 現在までに設置された酵母の *genus* には, それ固有のキノン系が見出された。c) ある属内でのキノン系の分子が複雑であれば, その *genus* は *heterogeneous* と考えられる。d) 天然には, 現在まで, 全種類のユビキノンの分子種が見出されているが, この数は数多く存在する酵母の *species* を分類するに, あまりにも少ない。しかし, 他の *criteria* と併用することによって, 新しい分類上の知見が得られるものと考えられる。したがって, 本研究は, 他の微生物においても, このような知見が得られるかに興味を抱き, *coryneform* および *nocardioform bacteria* ととりあげて, 行われたのである。

2. 方法. *Coryneform* および *nocardioform bacteria* は, 特殊な場合を除き, *glucose* 0.7%, *glycerol* 0.3%, *meat extract* 0.3%, *peptone* 0.3%, *brain-heart infusion* 0.2%, などの培地に, 24~30時間, 振盪培養を行う。Inoculum size は 1:10, 温度は 30°C である。培養液から遠心分離によって集められた菌体から, *ether-ethanol* (4:1) の混合液で 20 分間, 激しく振盪し, 脂溶性物質を抽出する。この抽出を 3 回繰り返して, 菌体を除いた上清液を減圧濃縮し, アセトン可溶物について, 薄層クロマトグラフィーを行い, メナキノンを画分する。クロマトグラフィーには, *Kiesel gel GF₂₅₄, type 60*, *benzene-hexane-chloroform* (1:2:1) を用いる。メナキノンは *authentic* として用いた *vitamin K*, よりも, 僅かに高い *R_f* 0.7 付近の band として, 検出される。メナキノンの溶出にはアセトンを用い, 逆相ペーパー・クロマトグラフィーおよび質量分析によって, メナキノンのタイプを決定した (ペーパー・クロマトグラフィーには 2 種の溶媒を用いる。すなわち, 白色ワセリンの 2.5% あいは 1.25%, w/w のトルエン溶液に浸したペーパーには *N,N*-dimethyl-formamide-water (98:2) と, シリコン, 信越化学, KF-54 の 3.0%, w/w のクロホルム溶液に浸したペーパーには *ethanol-ethyl acetate-water* (5:3:1) と, それぞれ, 用いる)。

3. 結果.

a) *Coryneform bacteria* には MK-8, MK-8(CH₂), MK-8(CH₃), MK-9, MK-9(CH₂), MK-9(CH₃) および MK-10, MK-11 など, 数種のメナキノンの見出され, この群における分類上の複雑性を示す。Genus *Corynebacterium* には, *C. diphtheriae*, *C. equi*, *C. fascians* の MK-8(CH₂), *C. glutamicum*, *C. lilium*, *C. xerosis* の MK-9(CH₂)

シンポジウム (微生物の化学分類)

が見出された。グルタミン酸生産菌である *C. glutamicum* は *C. diphtheriae* と、GC 含量の点で一致するにもかかわらず、メナキノン系で、完全に区別できた。さらに、2 の genus は GC 含量²⁾、ホスファチジルエタノールアミン³⁾およびメナキノニ系²⁾を組み合わせれば、4 つの群に分別できることが見出された。Genus *Arthrobacter* は MK-9 (H₂) と主たるキノン系とあるが、*A. nicotianae* の 2 種の菌とは異なる (MK-8 MK-9)。Genus *Brevibacterium* は、*B. linens* の MK-8 (H₂) と除き、複雑なキノニ系を示す (*B. lipolyticum*, MK-8 (H₄); *B. fuscum*, MK-9 MK-8; *B. helvolum*, MK-9 (H₂); *B. ammoniagenes*, MK-9 (H₂); *B. sulfureum*, MK-9 (MK-10); *B. albidum*, *B. citreum*, *B. luteum*, MK-9)。その他、genus *Cellulomonas* の MK-9 (H₄)、genus *Microbacterium* の MK-8 (H₂) MK-9 (H₂) などであった。Yamada and Komagata³⁾ の 7 つの groups は、メナキノニ系を導入することによって、きわめて興味ある知見が得られた。すなわち、group 6 は MK-8 (H₄)、group 7 は MK-11 (MK-10)、group 5 である genus *Curtobacterium* の菌株は *C. testaceum* と除き、MK-9 で統一されることが判明した (*C. testaceum* は MK-11)。

b) *Nocardioform bacteria* のうち、genus *Mycobacterium* の 2 種、*M. tuberculosis* および *M. phlei* は MK-9 (H₂) であるが、genus *Nocardia* は *N. asteroides*, *N. farcinica*, *N. brasiliensis*, *N. caviae* など MK-8 (H₄)、*N. erythropolis*, *N. opaca*, *N. globerula* など MK-8 (H₂) と、2 の genus は 2 つのキノン系の菌群に分類された。その他、*N. polychromogenes* の MK-9 (H₂) [MK-8 (H₂)], *N. rubropertincta* の MK-9 (H₂) も見出された。MK-8 (H₄) と 6 つの菌は "true nocardiae" と考えられるが、MK-8 (H₂) は "rhodochrous complex" の基本的なキノンとみなされる。Genus *Oerskovia* は MK-9 (H₄)、また、genus *Actinomadura* はキノン系から脱められ、2 系統の菌から、あくとも交り混ったことが見出された。すなわち、*A. madunae* および *A. pelletieri* の MK-9 (H₆) [MK-9 (H₄) MK-9 (H₈)], *A. dassonvillei* の MK-10 (H₂) MK-10 (H₄) [MK-10 (H₆)] あるいは MK-10 (H₆) MK-10 (H₈) [MK-10 (H₁₀) MK-9 (H₂) MK-9 (H₄)] である。

以上の事実をもとに、micrococci の結果とあわせて、メナキノン系から脱めた coryneform および nocardioform bacteria の類縁関係について論じる。

4. 文献

- 1) K. Yamada and K. Komagata, J. Gen. Appl. Microbiol., 16, 215 (1970).
- 2) I. Komura, K. Yamada, S. Otsuka, and K. Komagata, J. Gen. Appl. Microbiol., 21, 251 (1975).
- 3) K. Yamada and K. Komagata, J. Gen. Appl. Microbiol., 18, 417 (1972).