短 報

腸炎ビブリオにおける細胞外プロテアーゼ産生の
調節——各種炭素源による抑制と増殖速度の関係

井内 史郎 木村 右 田中 修二

高知医科大学 微生物学教室

南国市岡豊町小蓮 〒 781-51

〔受付：5月13日，1981年〕

細菌における細胞外酵素 (exoenzymes) の産生は、各種炭素・エネルギー源 (以下単に炭素源と記す) 存在下で種々の程度に抑制される³⁾。既報²⁾のように、腸炎ビブリオではこの種の抑制に少なくとも2つの異なった機構が関与する。1つはすでによく知られている、いわゆる“cyclic AMP-mediated” catabolite repression⁴⁾ (CCR), 他の1つはこれと一見類似するがその強さおよび抑制物質の範囲で異なり、かつ cyclic AMP の関与が証明されない別種の抑制機構 (仮に catabolite-like repression; CLR と呼ぶ) である。前者は本菌の誘導性 (inducible) アミラーゼ、後者は非誘導性 (non-inducible) プロテアーゼで見い出される。CCR にしろ CLR にしろ、細胞内で調節の直接の引きがねとして働く作用因子 (effector) の実体は明らかでない。CCR については各種炭素源の分解代謝過程に共通する何らかの代謝中間物質 (catabolites) がその本体であろうとの推測が以前からなされ、その論拠の1つとして炭素源の利用速度 (唯一の炭素源として利用された時は菌の増殖速度) と抑制の強さとの間にある程度の相関が認められる事実が指摘されている^{3,4)}。この種の相関関係が CLR ではどの程度認め得るか。以下の成績はこの点を検討したものである。

使用株は既報¹⁾ プロテアーゼ高産生性変異株 (hyper-protease-producing mutant) 3001株。本変異株は野生株 (1010株) に比し、比活性で4～5倍のプロテアーゼを産生するが、CLR に対する感受性は失つておらず、この種の解析には野生株よりはるかに有用である。無機培地 V²⁾ に各種単一物質を唯一の炭素源として加え、25℃で一定菌量 (0.15 mg cell protein/ml) まで培養。増殖速度は増殖曲線より直接算定。プロテアーゼ活性²⁾ は比活性——ただし、ブドウ糖を用いた場合の値 20 units/mg cell protein を1とした時の相対値——で表

示。結果は図1の通りである。

一見して明かなように、用いた14種の炭素源中少なくとも9種 (4～12) については増殖速度とプロテアーゼ比活性との間に高度の負の相関が認められる。この群について算出した相関係数 $r = -0.94$ (t検定に基づく危険率0.1%以下で高度に有意)、回帰直線 (実線) は $y = -10.7x + 9.0$ で表わされる。この式で示される相関関係は増殖速度のきわめておそい3種の炭素源 (1～3) の範囲まで拡大した群 (1～12) についてもほぼ成立するように見受けられるが (この場合の仮の回帰直線を破線で示した)、この付近の例数が少なく、かつ培養が長時間に及ぶため測定値のバラツキが大きいなどを考慮すると、明確な結論は下せない。ピルビン酸ナトリウム (13) および乳酸ナトリウム (14) については、この図の散布状況から判断する限り上述の回帰直線で示される法則からははずれると見るのが妥当であろう。なお、培地はリン酸緩衝液 (0.05M) およびカゼイン (0.1%) を含み²⁾、実験中の pH 変動および酵素の失活はほぼ防止されている。

このような結果は、CLR も CCR 同様、本質的には一種の代謝物抑制 (metabolite repression) であつて、少なくとも相関の明白な9種の炭素源についてはその代謝速度に相応して生成される何らかの共通物質が抑制の作用因子であることを示唆するものと言えよう。ピルビン酸塩および乳酸塩による抑制は上述の9物質に比べ異常に強い (対応する回帰直線上の値のそれぞれ15および8%) が、この事実から直ちにこの場合の作用因子が上記9物質の場合と異なるという結論を導くことはできない。たとえば、問題の作用因子がピルビン酸、乳酸のいずれか、またはこれから直接に生成される第3の物質などであれば、このような結果になる可能性もじゅうぶん

Fig. 1. Correlation between growth rates and extracellular protease production in a hyperprotease-producing mutant, 3001, of *Vibrio parahaemolyticus* grown on different carbon sources. Carbon sources (0.2–0.4%) : glutamate(1), aspartate (2), acetate(3), glycerol(4), succinate(5), L-arabinose(6), fructose(7), galactose(8), mannose(9), glucose(10), mannitol(11), maltose(12), pyruvate(13), and lactate(14). Specific activity obtained with glucose as carbon source was 20 units/mg of cell protein.

考えられる。これらの点については今後別の角度からの検討が必要である。

文 献

- 1) Iuchi, S. and Tanaka, S. (1979) : Microbiol. Immunol., **23**, 415–418.
- 2) Iuchi, S. and Tanaka, S. (1980) : Microbiol. Immunol., **24**, 803–814.
- 3) Priest, F. G. (1977) : Bacteriol. Rev., **41**, 711–753.
- 4) Wanner, B. L., Kodaira, R., and Neidhardt, F. C. (1978) : J. Bacteriol., **136**, 947–954.