[農化 第 39 卷, 第 5 号, p. 181~186, 1965]

放射状菌に関する研究*

Rufomycin 生成におよぼすアミノ酸の影響

東出 栄治, 柴田 元雄 (武田薬品工業株式会社研究所)

昭和 39 年 12 月 28 日 受理

緒 言

Rufomycin^(1,2) は *Streptomyces atratus* nov. sp.⁽³⁾ によって生成される新抗結核性抗生物質である。本物質は A および B などからなるが、これらのうち A は L-ニトロチロシン⁽⁴⁾, L-アラニン, N-methyl- γ -methyl glutamic aldehyde⁽⁵⁾, L-ロイシン, L-2-amino-4-hexenoic acid, L-トリプトファン誘導体, L-N-メチルロイシンからなる環状ポリペプチドと考えられ、他方 B は A におけるものと異なる L-トリプトファン誘導体⁽⁶⁾を有し、また L-N-methyl- γ -methyl glutamic aldehyde が L-N-メチルロイシンに置換された同様のペプチド型抗生物質と推定されている⁽⁷⁾。このように本物質は環状ペプチドの構造を有し、一般細菌に対してはほとんど抗菌力がなく、抗酸性菌に対して強い抗菌作用を有する。

一方、一般細菌に有効なペプチド型抗生物質としては actinomycin⁽⁸⁾を初めとして、mikamycin⁽⁹⁾など数種⁽¹⁰⁾のものがあるが、これらのペプチド型抗生物質の生成はアミノ酸によって種々の影響を受けることが報告されている。すなわち、actinomycin の場合には DL-イソロイシンまたはザルコシンを培地に添加すると通常生成される物質以外の actinomycin 類縁物質⁽¹¹⁻¹³⁾が生成され、他方、D-バリン⁽¹⁴⁾, D-イソロイシン⁽¹⁵⁾, あるいはトリプトファン誘導体⁽¹⁶⁾によって actinomycin 生成が阻害されると報告されている。また細菌が生成する gramicidin S については本物質の構成成分である D-フェニルアラニンが培地中になければ、本物質生成が減少し、またその構成アミノ酸の誘導体を培地中に加えると、その生成が著しく阻害されることが認められている。

Rufomycin はさきに述べたような、既知のペプチド

型抗生物質とは抗菌スペクトルを全く異にするものであり、しかもその構成アミノ酸はすべて L 型であるので、本物質の生成がアミノ酸によってどのような影響を受けるかは非常に興味深い。著者らはこれを検討するために、まず生産菌の生育と rufomycin 生成に好適な合成培地の検索を行なった。選択された合成培地に種々のアミノ酸を添加して rufomycin の生成に対する影響を調べ、本物質の生成に対して 2, 3 のアミノ酸が促進または阻害することがわかったので報告する。

実験方法

1. 培養：菌株はすべて *Streptomyces atratus* MJ-4 を使用した。培養は種培養、本培養の 2 段階培養法で行ない、種培養は S 培地（培養基の項）にグルコース、アスパラギン斜面寒天培地に生育させたものから 1 白金耳接種し、40 時間振盪培養した。種培養終了後、培養液を遠心分離して上澄液を除去し、菌体を 0.8% 滅菌食塩水で 2 回水洗した後、同溶液で原液量に戻して菌浮游液をつくり、これを種とした。接種量は 4% とし、培養はすべて 200 ml のエルレンマイヤーフラスコに 50 ml の培養基を注入し、220 r. p. m. の回転振盪機により、28°において実験した。

2. 培養基

a) 種培養培地 (S 培地) 種培養に用いた培地は次のように調製した。可溶性澱粉 5.0%, エールリッヒ肉エキス 0.5%, ポリペプトン 0.5%, NaCl 0.5%, K_2HPO_4 0.2%, corn steep liquor 2.0% を水道水に溶かして pH を 7.0 に補正した後、 $CaCO_3$ 0.5% を加えて分注した。なお、滅菌は 1.5 気圧、15 分間行なった。

b) 本培養培地 (合成培地) K_2HPO_4 400mg, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 300 mg, $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ 8 mg, $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 15 mg, $CaCl_2$ 10.9 mg, $MnCl_2 \cdot 6H_2O$ 10.9 mg, $ZnCl_2$ 6.3 mg, $CaCO_3$ 5 g を基礎培地組成とし、これに窒素源を加えた後、蒸留水で 800 ml にした。これをフラスコ

* Studies on Streptomycetes. Effect of Amino Acid on Rufomycin Production.

By Eiji HIGASHIDE and Motoo SHIBATA (Research Laboratory, Takeda Chemical Industry, Ltd.)

に 40 ml ずつ分注して, 1.0 気圧, 15 分間滅菌した。炭素源および添加すべきアミノ酸はそれぞれ別に滅菌して接種直前に加え, フラスコ当り 50 ml に調整した。

3. 測定法; 培養条件を調べるに際し, 培養濾液の pH, 菌体生育量および培養濾液と菌体中の rufomycin の生成量を測定した。このために全培養液をメス・スピッツロール中に 5 ml 採取し, これを 3,000 r. p. m., 15 分間遠心分離し, 上澄の培養液および菌体に分別して, それぞれの試料とした。

a) pH; 東洋濾紙 pH 試験紙を用いた。

b) 生育量; 卅: 非常によく生育する, 卅: よく生育する, +: 生育する, ±: ほとんど生育しない。これらの 4 段階に分けて表示するか, あるいは全培養液を遠心分離して, 沈殿した菌体量を ml/100 ml 培養液として体積で示した。

c) Rufomycin 生成量; Rufomycin の生成量は rufomycin A を標準とした抗菌力で示した。遠心分離した上澄液の抗菌力は *Mycobacterium avium* IFO-3154 を被検菌とし, カップ法で測定した。また菌体中の rufomycin の抗菌力は全培養液を遠心分離した後, 上澄液を除去し, 沈殿した菌体に原液量 (5 ml) のアセトンを加えてよく攪拌し, 2~3 時間放置後, その抽出液を試料とした。この場合, 試料がアセトン溶液であるためにペーパーディスクを用い, *Sarcina variabilis* IFO-3067 を被検菌として使用した。

実験結果および考察

I) 合成培地の検索

1. 窒素源の検討: 前述した基礎培地に次に示すようなものを窒素源として 1% 加えた。KNO₃, NH₄NO₃, Ca(NO₃)₂, NaNO₃, NH₄Cl, (NH₄)₂SO₄, NH₄H₂PO₄, (NH₄)₂HPO₄, 修酸アンモニウム, くえん酸アンモニウム, こはく酸アンモニウム。またこの場合炭素源としてはグルコースを 1% 用いた。

結果は第 1 表に示すとおりである。すなわち, すべて 7 日間培養して rufomycin 生成量, 菌体生育量をそれぞれ比較すると, 修酸アンモニウム以外の窒素源の場合はよく生育することがわかった。特にアンモニウム塩,

第 1 表 無機窒素源の rufomycin 生成におよぼす影響

窒素源	2 日			4 日			7 日		
	pH	生育	力価 (r/ml)	pH	生育	力価 (r/ml)	pH	生育	力価 (r/ml)
KNO ₃	6.8	卅	0	6.8	卅	10.0	7.8	卅	20.8
NH ₄ NO ₃	6.4	卅	0	5.2	卅	0	7.8	卅	1.5
Ca(NO ₃) ₂	6.2	卅	0	6.2	卅	12.5	6.2	卅	17.2
NaNO ₃	6.6	卅	0	6.8	卅	0	7.6	卅	9.6
NH ₄ Cl	6.2	卅	0	6.2	卅	0	6.8	卅	<1.0
(NH ₄) ₂ SO ₄	6.6	卅	0	5.8	卅	0	7.6	卅	<1.0
NH ₄ ·H ₂ ·PO ₄	5.0	卅	0	4.8	卅	0	5.4	卅	0
(NH ₄) ₂ HPO ₄	7.0	卅	0	6.5	卅	0	6.4	卅	0
NH ₄ -Oxalate	9.2	±	0	9.0	±	0	8.6	±	0
NH ₄ -Citrate	8.5	卅	0	9.0	卅	0	8.8	卅	0
NH ₄ -Succinate	8.2	卅	0	8.4	卅	0	8.8	卅	0
対 照*	7.8	卅	18.5	8.2	卅	21.5	8.8	卅	19.6

* 複合培地 (S 培地)

すなわち NH₄NO₃, (NH₄)₂SO₄, NH₄·H₂PO₄ および (NH₄)₂HPO₄ を窒素源とした場合, 一層生育が良好であった。しかし rufomycin の生成は生育量とは平行せず, KNO₃ > Ca(NO₃)₂ > NaNO₃ > NH₄NO₃ の順に減少し, アンモニウム塩を窒素源にした場合, rufomycin はほとんど生成しないことがわかった。

このように基礎培地に炭素源としてグルコースを用いた場合, rufomycin の生成に対しては無機の窒素源のうち硝酸塩のみがよく, 生育に対して良好なアンモニウム塩とは対照的であった。このことは第 1 表からも推測されるように窒素源をアンモニウム塩にした場合, アンモニウム・イオンが菌の増殖に利用され易いため, 残った酸性イオンによって培地の pH が下がることもその原因の 1 つと考えられる。

次に前述の実験と同様に炭素源として 1% のグルコースを用い, 窒素源として KNO₃ のほかに生育により影響を与える (NH₄)₂SO₄ の適量を加え, rufomycin 生成に対する炭素源と窒素源の量比を検討した。

その結果, 第 2 表に示すように KNO₃ 1%, グルコース 1% の場合がもっともよいことがわかった。

2. 炭素源の検討: 前述の実験から合成培地における rufomycin 生成に対して, KNO₃ が無機窒素源としてもっともよいことがわかったので, KNO₃ 1% を窒素源とし, 第 3 表に示したような 18 種の炭素源 1% を用いて rufomycin 生成量を検討した。

すなわち, 生育が非常によい炭素源としては D-グルコース, D-マルトース, D-マンノース, グリセリン, 可溶性澱粉, デキストリンおよび D-リボースであり, 悪い

ものとしては L-アラビノース, マンニット, ソルビット, サッカロース, ラフィノースであった。また rufo-mycin 生成については D-マルトースがもっとも良好で、次は D-グルコース, D-ラクトース, グリセリン, デキス

第2表 Rufomycin 生成におよぼす $\text{KNO}_3 \cdot \text{グルコース}$ の量比と $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ の影響

KNO_3 (%)	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (%)	グル コース (%)	2 日			4 日			7 日		
			pH	生育	力価 (γ/ml)	pH	生育	力価 (γ/ml)	pH	生育	力価 (γ/ml)
0.5	0.05	1.0	6.2	冊	3.4	8.2	冊	17.5	8.4	冊	14.3
0.5	0.1	1.0	6.2	冊	2.2	8.0	冊	13.0	8.4	冊	8.2
0.5	0.05	2.0	6.4	冊	2.5	7.2	冊	19.0	8.4	冊	39.0
0.5	0.1	2.0	6.1	冊	2.2	6.8	冊	16.0	8.0	冊	22.0
1.0	0.1	1.0	6.1	冊	1.9	7.0	冊	13.0	8.4	冊	12.0
1.0	0.2	1.0	6.0	冊	1.9	8.0	冊	9.0	8.4	冊	7.6
1.0	0.1	2.0	5.8	冊	1.9	6.8	冊	22.0	8.1	冊	25.0
1.0	0.2	2.0	5.8	冊	<1.0	6.5	冊	7.6	8.0	冊	14.3
2.0	0.2	1.0	6.1	冊	0	7.8	冊	14.0	8.4	冊	7.4
2.0	0.4	1.0	6.3	冊	0	7.9	冊	9.0	8.4	冊	9.0
2.0	0.2	2.0	6.2	冊	1.2	6.2	冊	6.6	8.0	冊	18.8
2.0	0.4	2.0	6.2	冊	<1.0	6.0	冊	5.7	8.0	冊	15.0
0.5	0	0.5	6.8	冊	5.8	8.2	冊	14.0	8.8	冊	20.0
0.5	0	1.0	6.8	冊	4.8	8.2	冊	13.0	8.7	冊	19.4
0.5	0	2.0	7.0	冊	2.9	8.2	冊	16.0	8.4	冊	34.0
1.0	0	0.5	7.0	冊	6.6	8.3	冊	22.2	8.6	冊	16.0
1.0	0	1.0	6.9	冊	3.8	8.3	冊	19.0	8.8	冊	53.0
1.0	0	2.0	6.9	冊	3.4	7.9	冊	17.5	8.4	冊	30.0
2.0	0	0.5	6.8	冊	5.4	7.7	冊	14.3	8.4	冊	29.0
2.0	0	1.0	6.9	冊	4.0	7.6	冊	16.2	8.0	冊	23.5
2.0	0	2.0	6.8	冊	—	7.6	冊	20.2	8.0	冊	30.0
対	照*		7.0	冊	14.5	8.4	冊	17.5	9.0	冊	30.0

トリン, D-リボースの順であることがわかった。

菌の生育と rufo-mycin の生成量は大体平行しているようであるが, マンニットの場合のように生育は非常に悪くても 4~5 γ/ml の rufo-mycin 生成がみられるのもあり, 一方, 可溶性澱粉の場合のように, 非常によく生育するにもかかわらず rufo-mycin の生成が認められないものもあった。このように窒素源の場合と

第3表 Rufomycin の生成におよぼす炭素源の影響

炭素源	培養日数 測定事項	3 日				5 日				7 日			
		pH	生育	濾力価 (γ/ml)	菌力価 (γ/ml)	pH	生育	濾力価 (γ/ml)	菌力価 (γ/ml)	pH	生育	濾力価 (γ/ml)	菌力価 (γ/ml)
グリセリン		6.7	冊	2.75	2.0	7.0	冊	35.6	15.0	8.0	冊	29.5	3.0
キシロース		6.8	冊	2.15	1.9	6.8	冊	4.26	0	6.6	冊	4.1	0
アラビノース		6.8	土	1.08	1.0	6.6	土	0	0	6.6	土	0	0
リボース		7.0	冊	3.07	3.0	8.0	冊	28.0	3.5	8.8	冊	17.6	2.5
グルコース		6.9	冊	6.2	6.2	7.2	冊	72.0	10.0	7.6	冊	60.0	21.0
マンノース		7.0	冊	1.88	<1.0	8.2	冊	11.2	0	9.0	冊	5.5	0
ラムノース		7.1	冊	3.07	0	7.0	冊	9.8	0	7.6	冊	5.5	0
ガラクトース		5.7	冊	3.9	2.2	5.4	冊	9.2	2.5	5.6	冊	7.2	2.5
フラクトース		6.7	冊	3.26	2.5	6.6	冊	10.0	3.0	6.6	冊	6.46	5.9
ソルボース		6.2	+	1.62	1.8	6.3	+	0	0	6.6	冊	0	0
ラクトース		7.0	土	0	0	6.6	冊	8.6	5.6	8.0	冊	55.8	8.6
マルトース		7.0	冊	15.0	14.5	8.0	冊	81.0	12.0	8.3	冊	63.6	32.0
サッカロース		7.0	土	1.57	0	7.0	土	4.0	0	7.5	土	0	0
ラフィノース		7.0	土	1.45	0	7.0	土	4.5	0	7.6	土	0	0
マンニトール		7.2	土	4.9	3.9	7.0	土	5.62	2.4	7.0	土	4.0	0
ソルビトール		7.0	土	2.75	<1.0	7.0	土	3.5	0	7.0	土	3.1	0
澱粉		7.0	冊	0	0	6.8	冊	0	0	7.4	冊	0	0
デキストリン		7.2	冊	3.07	2.0	8.0	冊	28.0	5.2	8.8	冊	19.8	2.5

第4表 Rufomycin 生成におよぼす炭素源および窒素源の影響

KNO ₃ (%)	炭 素 源 (%)		3 日				5 日				7 日			
			pH	生育 (ml)	濾力価 (r/ml)	菌力価 (r/ml)	pH	生育 (ml)	濾力価 (r/ml)	菌力価 (r/ml)	pH	生育 (ml)	濾力価 (r/ml)	菌力価 (r/ml)
0.5	グルコース	1.0	7.1	4.0	6.8	4.5	8.0	6.0	19.0	3.9	8.1	10.0	28.6	4.6
0.5	マルトース	1.0	7.9	6.0	13.5	5.3	8.7	12.0	20.0	5.3	9.0	14.0	29.8	4.6
0.5	ラクトース	1.0	7.0	2.0	0	1.0	7.6	8.0	5.4	1.8	8.0	20.0	18.1	1.0
0.5	グリセリン	1.0	7.8	4.0	12.5	3.5	7.6	6.0	16.0	5.0	8.3	18.0	20.5	4.0
0.5	デキストリン	1.0	8.2	6.0	2.7	2.3	8.8	8.0	12.5	3.1	9.1	8.0	10.5	1.45
1.0	グルコース	2.0	7.0	4.0	7.3	2.4	7.6	6.0	18.0	6.7	7.6	6.0	25.8	9.0
1.0	マルトース	2.0	7.6	10.0	12.5	5.6	8.0	12.0	22.0	18.0	8.3	18.0	42.0	7.6
1.0	ラクトース	2.0	6.6	2.0	0	1.0	7.6	8.0	4.4	5.0	7.2	30.0	0	4.0
1.0	グリセリン	2.0	7.2	4.0	8.5	5.0	8.0	8.0	14.5	9.0	8.0	20.0	16.5	7.6
1.0	デキストリン	2.0	8.0	10.0	12.0	5.4	8.4	12.0	18.0	6.3	9.2	14.0	1.7	6.4

第5表 Rufomycin 生成におよぼすアミノ酸の影響

アミノ酸	培養日数 測定事項	3 日				5 日				7 日			
		pH	生育 (ml)	濾力価 (r/ml)	菌力価 (r/ml)	pH	生育 (ml)	濾力価 (r/ml)	菌力価 (r/ml)	pH	生育 (ml)	濾力価 (r/ml)	菌力価 (r/ml)
L-グルタミン酸		8.0	8.0	39.0	9.0	8.4	8.0	43.0	7.8	9.2	10.0	96.0	5.4
L-アスパラギン酸		8.0	10.0	22.0	9.2	8.6	8.0	30.4	11.4	9.2	10.0	64.0	5.4
グ リ シ ン		8.2	9.0	21.2	7.5	8.8	6.0	29.0	5.4	9.2	11.0	68.0	5.4
DL-α-アラニン		8.2	12.0	43.0	8.4	9.0	6.0	44.0	7.2	9.2	17.0	124.0	8.4
D-α-アラニン		8.2	8.0	36.0	7.5	8.8	8.0	36.0	6.3	9.2	12.0	112.0	8.3
L-α-アラニン		8.2	10.0	54.0	9.0	9.2	6.0	35.0	7.2	9.2	15.0	85.0	6.3
β-アラニン		8.2	10.0	25.0	9.1	9.2	8.0	30.0	6.6	9.2	15.0	76.0	5.7
DL-メチオニン		8.2	12.0	36.0	4.9	8.6	10.0	72.0	8.7	9.2	20.0	141.0	13.0
L-メチオニン		8.2	10.0	28.0	3.9	8.2	10.0	64.0	10.8	8.8	20.0	173.0	19.2
L-ロイシン		8.2	10.0	60.0	13.8	8.6	10.0	68.0	12.3	9.2	16.0	144.0	14.8
D-ロイシン		8.2	12.0	45.0	8.4	9.2	8.0	50.0	6.2	9.2	16.0	102.0	7.1
DL-イソロイシン		8.2	12.0	1.3	1.6	9.2	8.0	3.0	1.2	9.2	18.0	2.5	1.9
D-イソロイシン		8.2	10.0	<1.0	0.94	9.2	8.0	4.6	1.05	9.2	12.0	<1.0	1.5
L-イソロイシン		8.2	11.0	22.0	5.7	9.2	8.0	50.0	3.6	9.2	14.0	60.0	6.0
DL-トリプトファン		8.2	10.0	25.0	6.9	9.2	8.0	48.0	4.9	9.2	14.0	75.0	7.5
L-トリプトファン		8.2	14.0	32.0	8.2	9.2	8.0	58.0	6.6	9.2	12.0	87.0	6.2
D-トリプトファン		8.2	10.0	42.0	10.4	9.2	8.0	58.0	6.9	9.2	18.0	76.0	8.2
DL-セ リ ン		8.2	10.0	18.2	5.6	9.2	6.0	45.5	3.6	9.2	12.0	67.0	4.5
L-チロシン		8.2	10.0	21.0	6.9	9.2	6.0	61.0	3.5	9.2	14.0	92.0	7.2
L-ニトロチロシン		8.2	10.0	17.2	4.2	8.6	8.0	61.0	7.2	9.2	12.0	73.0	5.7
L-プロリン		8.4	10.0	33.0	9.0	9.2	8.0	82.0	6.5	9.2	15.0	96.0	11.0
L-オキシプロリン		8.3	14.0	43.0	10.4	9.2	6.0	57.0	5.4	9.2	14.0	85.0	11.0
L-フェニルアラニン		8.4	12.0	31.0	7.8	9.2	8.0	44.0	3.5	9.2	14.0	59.0	10.0
DL-スレオニン		8.3	12.0	34.0	7.0	9.2	8.0	46.0	4.5	9.2	14.0	57.0	7.1
DL-バ リ ン		8.3	10.0	28.0	6.3	8.8	7.0	50.0	5.1	9.2	14.0	71.0	8.7
L-ヒスチジン		8.5	16.0	92.0	9.1	9.2	10.0	57.0	7.6	9.2	14.0	92.0	9.5
L-アルギニン		8.2	16.0	43.0	9.4	9.2	8.0	57.0	4.5	9.2	16.0	90.0	13.2
L-リ ジ ン		8.4	11.0	42.0	8.4	9.2	8.0	49.0	4.9	9.2	16.0	69.0	7.2
L-システイン		7.8	8.0	3.8	1.8	8.4	8.0	14.1	1.4	9.2	12.0	5.0	3.4
L-シスチン		8.4	11.0	48.0	6.9	9.2	8.0	58.0	7.2	9.2	12.0	104.0	10.1
対 照**		8.2	10.0	20.0	3.9	9.2	8.0	50.0	4.5	9.2	12.0	50.4	7.8

** アミノ酸無添加合成培地

同じく、炭素源についても生育量と rufomycin 生成とは必ずしも平行しないことが認められた。

以上の結果からさらに炭素源のうち D-グルコース、D-マルトース、D-ラクトース、グリセリン、デキストリンを選び、窒素源を KNO_3 として rufomycin 生成に対する各炭素源および窒素源の好適な量比を検討した。その結果、第4表から明かなように合成培地における rufomycin の生成は窒素源として KNO_3 1%, 炭素源として D-マルトース 2% を用いるのがもっともよいことがわかった。したがって以後合成培地には次の組成を使用し、これを KNO_3 -マルトース培地と称する。

D-マルトース 20 g, KNO_3 10 g, K_2HPO_4 400 mg, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 300 mg, $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 8 mg, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 15 mg, CaCl_2 10.9 mg, $\text{MnCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 10.9 mg, ZnCl_2 6.3 mg, CaCO_3 5 g (以上 1 l 中の組成)。

II) Rufomycin 生成におよぼすアミノ酸の影響

さきの実験で選択された KNO_3 -マルトース培地にアミノ酸を添加して rufomycin 生成に対する影響を検討した。使用したアミノ酸は第5表に示されている 27 種で、それらの添加量は 0.001%, 0.005% の場合、アミノ酸無添加の対照にくらべ rufomycin の生成にほとんど影響を与えなかったもので、ここではすべて 0.05% 添加した。

結果は第5表に示したように対照と比較して、1.5~2 倍以上の rufomycin 生成量を示したアミノ酸は次のようなものがあげられる。DL-アラニン、D-アラニン、DL-メチオニン、L-メチオニンおよび L-ロイシン、また 1.2~1.5 倍の生成量を示すものとして、D-ロイシン、L-シスチン、L-グルタミン酸、L-チロシン、L-トリプトファン、L-プロリン、L-ヒドロキシプロリン、L-ヒスチジン、L-アルギニンであった。反対に添加したために rufomycin 生成量が 1/10 以下に減少したものは DL-イソロイシン、D-イソロイシンおよび L-システインである。

Rufomycin はさきに述べたように7個のアミノ酸からなる環状構造を有していると推定されているが、アミノ酸を培地中に加えて培養することによって培養液中の抗菌力が增大することに対して次のようなことが考えられる。1) アミノ酸が rufomycin の前駆物質となり、その生成量が増加する。2) 生成される rufomycin の中で高い抗菌力を有する物質の生成比率が増大する。ロイシン、アラニン、チロシンおよびトリプトファンによって抗菌力が增大するのはそれらが rufomycin の構成アミ

ノ酸であることからその前駆物質となり、rufomycin 生成量が増加するのであろうと考えられる。また、グルタミン酸は α -ケトグルタル酸を経てロイシンを生じ、プロリン⁽¹⁹⁾、アルギニン⁽²⁰⁾およびヒスチジン⁽²¹⁾はそれらの分解によりグルタミン酸を生成することが他の微生物において知られているので、これらのアミノ酸は間接的に rufomycin 生成の前駆物質になるのではないかと考えられる。一方、含硫アミノ酸のうちシスチンおよびメチオニンは rufomycin 生成量を増加させるのに反し、前者の還元物質であり、後者の生合成における前駆物質と考えられているシステイン⁽²²⁾が rufomycin 生成を阻害しているのは興味深い。

他方、DL-イソロイシンまたは D-イソロイシンを培地中に添加して培養すると、rufomycin 生成が著しく阻害されることがわかった。本物質はその構成アミノ酸中にロイシンおよびその N-メチル誘導体を有しているため、イソロイシンが rufomycin 生成に対して何らかの拮抗作用を生じているのではないかと考えられる。またこの阻害は DL-イソロイシンおよび D-イソロイシンの場合にみられ、L-イソロイシンではそのような影響がみられないのはアミノ酸の種類だけでなく、その立体構造にも関連があると考えられる。

要 約

Streptomyces atratus nov. sp. の合成培地における培養条件を検討し、生育ならびに rufomycin 生成に好適な培地として次に示すようなものを選択した。D-マルトース 20 g, KNO_3 10 g, K_2HPO_4 400 mg, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 300 mg, $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 8 mg, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 15 mg, CaCl_2 10.9 mg, $\text{MnCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 10.9 mg, ZnCl_2 6.3 mg, CaCO_3 5 g/1,000 ml 蒸留水。

この合成培地にアミノ酸を添加して培養し、rufomycin 生成におよぼす影響を検討した。その結果、rufomycin 生成に良好な影響を与えるアミノ酸は DL-アラニン、D-アラニン、L-アラニン、DL-メチオニン、L-ロイシン、D-ロイシン、L-シスチン、L-グルタミン酸、L-チロシン、L-トリプトファン、L-プロリン、L-アルギニンおよび L-ヒスチジンなどであり、また反対に rufomycin 生成を著しく阻害するアミノ酸は DL-イソロイシン、D-イソロイシンおよび L-システインであることを明らかにした。

終りに臨み終始御鞭撻を賜った研究開発本部長岡末雄博士および阿部又三博士、武田六郎博士ならびに中

沢鴻一博士に深甚なる謝意を表します。また実験の細部にわたり終始協力された森たかね、堀節子の両氏に深く感謝します。

(なお本報告は昭和39年12月12日、日本農芸化学会関西支部例会において発表した。)

- (1) 中沢鴻一, 柴田元雄, 東出栄治, 神崎俊彦, 山本弘一, 三宅 彰, 上柳次三郎, 岩崎英介 : 日本特許昭 36-17398 (昭 36.9.26).
- (2) E. Higashide, M. Shibata, H. Yamamoto, K. Nakazawa, H. Iwasaki, J. Ueyanagi, A. Miyake : *Agr. Biol. Chem.*, **26**, 234 (1962).
- (3) M. Shibata, E. Higashida, H. Yamamoto, K. Nakazawa : *ibid.*, **26**, 228 (1962).
- (4) T. Takita, K. Oki, Y. Okami, K. Maeda, H. Umezawa : *J. Antibiotics*, Ser A, **15**, 46 (1962).
- (5) T. Takita : *ibid.*, Ser A, **16**, 175 (1963).
- (6) M. Fujino, T. Kamiya, H. Iwasaki, J. Ueyanagi, A. Miyake : *Chem. Pharm. Bull.*, in press.
- (7) 上柳次三郎, 藤野政彦, 神谷高明, 岩崎英介, 三宅 彰, 立岡末雄 : 第7回天然有機化合物討論会講演要旨集, p. 109 (1963).
- (8) S. A. Waksman, H. B. Woodruff : *J. Bacteriol.*, **40**, 581 (1940).
- (9) M. Arai, S. Nakamura, Y. Sakagami, K.

- Fukuhara, H. Yonehara : *J. Antibiotics*, Ser A, **9**, 193 (1956).
- (10) S. A. Waksman, H. A. Lechvalier : "The Actinomycetes", Vol. III, The Williams and Willkins Co. press, 1962, p. 62.
 - (11) G. Schmidt-Kastner : *Naturwiss.*, **43**, 131 (1956).
 - (12) G. Schmidt-Kastner : *Medizin und Chemie.*, **463** (1956).
 - (13) G. Schmidt-Kastner : *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **89**, 299 (1960).
 - (14) E. Katz : *Nature*, **184**, 1666 (1959).
 - (15) J. Kawamata, M. Kimura, H. Fujita : *J. Antibiotics*, Ser A, **13**, 216 (1960).
 - (16) A. Sivak, E. Katz : *Biochem. Biophys. Acta*, **62**, 86 (1962).
 - (17) J. M. Barry, E. Ichihara : *Nature*, **181**, 1274 (1958).
 - (18) R. E. Winnick, H. Lis, T. Winnick : *Biochem. Biophys. Acta*, **49**, 451 (1961).
 - (19) R. J. Vogel, B. D. Davis : *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 109 (1952).
 - (20) D. M. Greenberg : "Metabolic Pathway", Vol. II, Academic press, 1961, p. 173.
 - (21) H. Tabor, A. H. Mehler, O. Hayaishi, J. White : *J. Biol. Chem.*, **196**, 121 (1952).
 - (22) N. H. Horowitz : *ibid.*, **171**, 255 (1947).