

## イネ白葉枯病細菌における二、三のアミノ酸代謝と毒性物質生産

野田 孝人\*・佐藤 善司\*\*・大内 昭\*

Takahito NODA\*, Zenji SATO\*\* and Akira OHUCHI\*: The relationship between utilization of some amino acids and production of toxic substances by *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*

### Summary

The present study was designed to demonstrate the relationship between utilization of some amino acids and production of toxic substances by *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*. It was suggested that four toxic substances, 3-methylthiopropionic acid (MTPA), trans-3-methylthioacrylic acid (MTAA), phenylacetic acid (PAA) and iso-valeric acid (IVA), isolated from the culture filtrate of *X. campestris* pv. *oryzae* were produced with the oxidative deamination reaction of amino acids, MTPA and MTAA from methionine, PAA from phenylalanine and IVA from leucine respectively.

### 緒 言

イネ白葉枯病細菌の生産する毒性物質として江川ら<sup>1)</sup>はフェニル酢酸を、また、野田ら<sup>3)</sup>はフェニル酢酸以外に6種の毒性物質を単離、同定した。これらの物質のうち3-メチルチオプロピオン酸 (MTPA) は *Neurospora crassa* のエチオニン耐性突然変異株の<sup>2)</sup>、また、トランス-3-メチルチオアクリル酸 (MTAA) は *Streptomyces lincolnensis* の<sup>4)</sup>メチオニン代謝物質として報告されている。そこで、本細菌のメチオニン代謝とMTPA およびMTAA 生産との関連について実験した。また、フェニル酢酸 (PAA) およびイソ吉草酸 (IVA) の生産と本細菌のアミノ酸代謝との関連についても検討した。

本実験を行うに当り東京大学応用微生物研究所第8研究部教授奥田重信博士、ならびに同助教授岩崎成夫博士から有益な御助言を頂いた。記して、深謝の意を表する。

### 材料および方法

**供試菌株** 供試菌株はイネ白葉枯病細菌 *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* T7174 である。ジャガイモ半合成寒天培地で28°C、2日間培養した供試菌株の菌体を殺菌蒸留水で10<sup>8</sup>~10<sup>7</sup>個/ml濃度に希釈して、移植源とした。

**培養方法** 渡辺の本細菌用培地<sup>5)</sup>のうち、L-シスチ

ン0.05%をDL-メチオニン0.01%に置き換えた合成培地100mlを、500ml容の坂口フラスコに分注して、120°C、15分間高圧滅菌した後、上記の懸濁液1mlを移植した。その後、28°Cで所定時間、往復振温(100回/min)培養を行った。

**毒性物質の抽出および定量法** 培養液中に含まれる毒性物質の抽出、精製および定量は前報<sup>3)</sup>の方法にしたがった。

### 結果および考察

供試細菌によるMTPA およびMTAA 生産とメチオニン代謝との関連を検討するために、DL-メチオニンの濃度が0~0.2%となるように段階的に調整した培地中で、供試細菌を3~7日間培養した後、培養液中のMTPA およびMTAA を定量した。その結果 (Fig.1), MTPA およびMTAA の生産量はDL-メチオニン濃度0.05および0.025%区で最も高かった。一方、DL-メチオニン低濃度(0.0031%)区では増殖量が、0.05%、0.025%とほとんど変わらないにもかかわらず、両物質の生産を確認できなかった。このことから、MTPA、MTAA 生産はメチオニン代謝と密接な関連があり、メチオニンが低濃度の場合、その大部分が本細菌の増殖に利用されているのではないかと考えられる。また、MTPA に対するMTAA 生産量の比率が、培養日数の増加とともに高まった理由として、MTAA がMTPA の酸化によって生産されることが推察される。

次に、PAA 生産とフェニルアラニン代謝およびIVA 生産とロイシン代謝との関連を検討した。フェニルアラニンおよびロイシンの濃度がそれぞれ0.05%となるよ

\*北陸農業試験場 Hokuriku National Agricultural Experiment Station, Inada, Joetsu, Niigata 943-01

\*\*農業技術研究所 National Institute of Agricultural Sciences, Yatabe, Tsukuba, Ibaraki 305

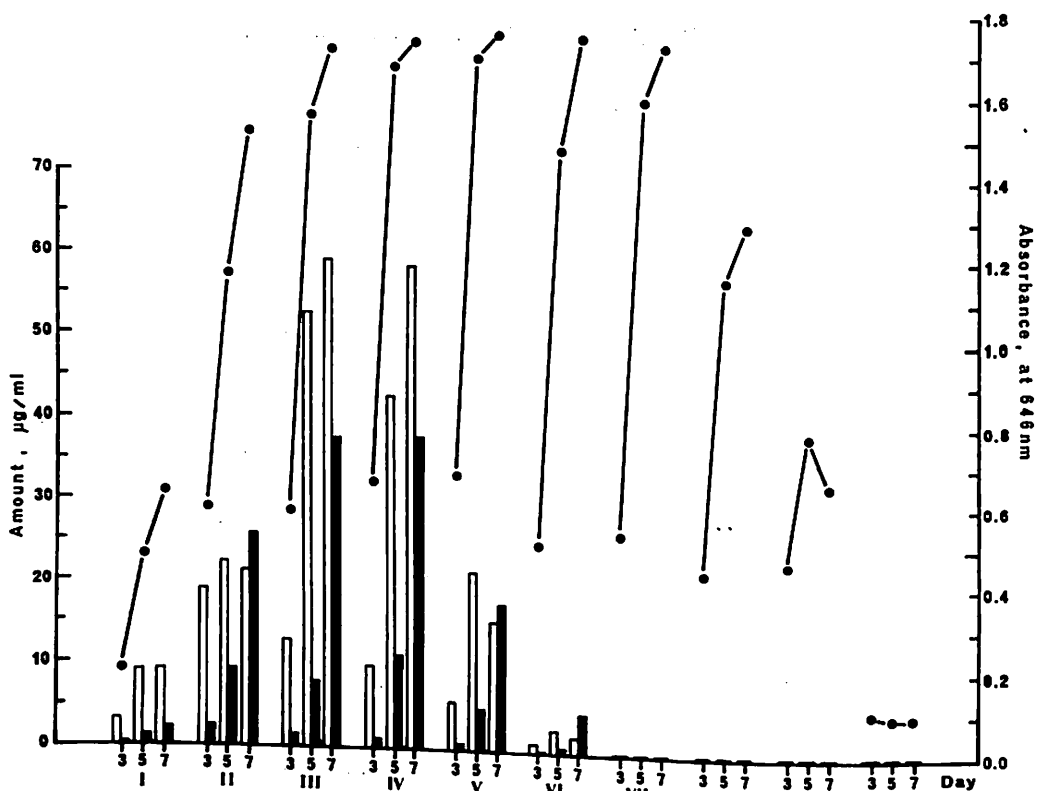


Fig. 1. Effect of concentration of DL-methionine on growth of *X. campestris* pv. *oryzae* and on production of MTPA and MTAA.

\* Constitution of the basal medium: L-glutamic acid 0.1%,  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  0.3%,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.2%,  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  0.1%,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.001%,  $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  0.001%, sucrose 0.5%, pH 6.5-7.0.

\*\* Amount of DL-methionine.

I. 0.2% II. 0.1% III. 0.05% IV. 0.025% V. 0.013% VI. 0.0063% VII. 0.0031% VIII. 0.0016% IX. 0.00078% X. 0%.

\*\*\* □ : MTPA, ■ : MTAA.

Table 1. Effect of addition of phenylalanine or leucine to the synthetic medium (S.M.) on production of PAA and IVA

Toxic substance	Medium	Amount ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	Growth ( $A_{646}$ )
Phenylacetic acid	S.M. + Phenylalanine (0.05%)	1.5	0.75
	S.M.	0	1.11
iso-Valeric acid	S.M. + Leucine (0.05%)	30.5	0.88
	S.M.	9.8	1.11

\* Constitution of the synthetic medium: L-glutamic acid 0.1%, DL-methionine 0.01%,  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  0.3%,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.2%,  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  0.1%,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.001%,  $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  0.001%, sucrose 0.5%, pH 6.5-7.0.

うに添加した培地に、供試細菌を4日間培養した後、両物質を定量した。その結果 (Table 1), PAAの生産量はフェニルアラニン0.05%添加区で、 $1.5\mu\text{g}/\text{ml}$ と測定されたが、無添加区では全く検出されなかった。IVAの生産量はロイシンを0.05%添加した場合  $30.5\mu\text{g}/\text{ml}$ 、無添加区では、 $9.8\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。

以上のことから、これらの物質の生産とアミノ酸代謝とは密接に関連していると考えられ、イネ白葉枯病細菌はアミノ酸の酸化的脱アミノ反応系を持つことが示唆された。

摘 要

MTPA, MTA A はメチオニン, PAA はフェニルアラニン, IVA はロイシンの代謝物質であると考えられ, イネ白葉枯病細菌がアミノ酸の酸化的脱アミノ反応系を持つことが示唆された。

#### 引用文献

- 1) 江川宏・吉井和弘・上山昭則(1968) イネ白葉枯病細菌培養液中に見出されたイネ苗幼根生育抑制物質, フェニル酢酸について. 日植病報 34: 46~50. 2) Galsworthy, S. B. and Metzner, R. L. (1965) Sulfur-containing metabolites secreted by an ethionine-resistant mutant of *Neurospora*. Biochemistry 4:1183~1188. 3) 野田孝人・佐藤善司・小林久芳・岩崎成夫・奥田重信(1980) イネ白葉枯病細菌の生産するイネに対する毒性物質について. 日植病報 46: 663~666. 4) Visser, J. and Meyer, H. F. (1969) Trans-3-(methylthio)-acrylic acid, a new metabolic product from *Streptomyces lincolnensis*. J. Antibiotics 22: 510. 5) 渡辺実(1963) イネ白葉枯病病原細菌の栄養生理に関する研究 II. 細菌の増殖に及ぼす炭素源および窒素源の影響. 日植病報 28: 201~208. (昭和58年7月23日受領)