

Mycobacterium と *Nocardia* の色素の比較

東 村 道 雄・水 野 松 司

国立療養所中部病院

受付 昭和 44 年 5 月 12 日

COMPARISON BETWEEN PIGMENTS OF
MYCOBACTERIUM AND *NOCARDIA**

Michio TSUKAMURA and Shoji MIZUNO

(Received for publication May 12, 1969)

Carotenoid pigments were extracted from 20 strains of various chromogenic mycobacteria by the method previously described (Tsukamura, M.: J. Biochem. (Tokyo), 51: 169, 1962) (Table 1). The epiphasic pigments were dissolved in petroleum ether and passed through a column of activated alumina. A major portion of pigments appeared as a yellow band in a column. The pigment was readily eluted into petroleum ether from a pigmented portion of the column. The pigment showed absorption maxima at 425, 450 and 475 m μ in petroleum ether or in n-hexane. These absorption maxima were identical as those of beta-carotene (Table 1).

Carotenoid pigments of pigmented nocardia also were extracted from 10 strains by a similar method. Unlike the pigments of mycobacteria, however epiphasic pigments of the nocardia could not be eluted into petroleum ether after absorption to alumina column but could be eluted into ethanol. The ethanol solution of pigments was evaporated under reduced pressure and then the pigments were dissolved in petroleum ether or in n-hexane before measurement of their absorption maxima. A major portion of carotenoids of the nocardia appeared as a broad reddish band in a column and showed absorption maxima at 435, 458 (to 460) and 488 m μ in petroleum ether or in n-hexane. These absorption maxima resembled those of gamma-carotene but differed slightly. All 10 strains showed a major pigment of the same nature (Table 2).

It was remarkable that, in spite of difference in species, all 20 strains of mycobacteria or all 10 strains of nocardia showed the same main pigment within the genus, respectively (Fig. 1).

Chargaff¹⁾ が *Mycobacterium phlei* に carotenoids が存在することを報告して以来、多数の研究者によつて *M. phlei* の色素が研究された (Goodwin & Jamikorn²⁾ 参照)。Goodwin & Jamikorn²⁾ は *M. phlei* の色素を研究し、発見される carotenoids の主要成分 (量的に大部分を示す成分) は β -carotene と同じ吸光曲線を示す物質であるが、 β -carotene と異なり vitamin A 作用がないと述べている。彼らはこの β -carotene と同じ吸光曲線を示すが、vitamin A 作用のない物質を leprotene

と名づけたが、この名はまだ他の研究者の文献にあらわれない。

一方、*M. phlei* は *Mycobacterium* 属において黄色ないし橙色色素を産生する唯一の菌種とみられていたが、最近になつて多数の色素産生抗酸菌が報告されるにいたつた。すなわち、photochromogens としての *M. kansasii* および *M. marinum*, scotochromogens としての *M. scrofulaceum*, *M. aurum*, *M. xenopei*, *M. flavescens* である。この中で *M. kansasii* の色素は、

* From the National Sanatorium, Chubu Chest Hospital, Aichi-Prefecture 474 Japan.

Tsukamura³⁾, Ebina et al.⁴⁾ によつて研究され、その主要成分は β -carotene 様物質 (Goodwin & Jamikorn²⁾ のいう leprotene が β -carotene と別個の物質であるかどうかは現在明らかでないが、 β -carotene と同一吸光曲線を呈し、vitamin A 作用の有無が検討されていない物質を“ β -carotene 様物質”と呼ぶこととする) であることが明らかにされた。また、東村⁵⁾ によれば、*M. scrofulaceum* および *M. aurum* の色素の主要成分も β -carotene 様物質であるという。

一方、*Nocardia* は分類学的に *Mycobacterium* に最も近い属として知られているが⁶⁾、この *Nocardia* のあるものは橙色または桃色の著明な色素を産生することが知られている。しかし、*Nocardia* の色素についての研究は、まだほとんど行なわれていないように思われる。著者の一人 (東村⁷⁾) は、前に *Mycobacterium* と *Nocardia* の生化学的性状を比較したが、ここに *Mycobacterium* と *Nocardia* の色素を比較してみることも分類学的ならびに進化的に興味あることと考へて、この研究を行なつた。

方 法

使用した菌株は、*Mycobacterium* 20 株、*Nocardia* 10 株で、これらの菌種名と菌株名は表に示してある。

被検株は *Mycobacterium*、*Nocardia* とともに、300 ml 容量 Erlenmeyer flask に 2% Sauton 寒天培地を分注して斜面に固めた培地に、白金耳で一様に塗抹して綿栓をほどこし、37°C で 7 日間培養 (*M. scrofulaceum* は 10~14 日) した後、白金耳で菌株を集め、蒸留水で 3 回洗滌して抽出に用いた。一実験には 3 flasks の菌を用いた。なお、*M. kansasii* は培養後、2 日間室内光にさらして発色させた。培養に綿栓を用いることは色素産生に必要な条件であつた (色素産生には酸素を必要とするが⁸⁾、これは特に *M. kansasii* の色素光合成および *Nocardia* の色素産生に絶対必要条件であつた)。

Mycobacterium からの色素抽出法は前に報告した方法によつた³⁾。

Nocardia からの色素抽出も同様の方法によつたが、

活性アルミナカラム吸着後の操作は次のごとくに変更した。すなわち、*Mycobacterium* の色素はカラムから petrol ether 中に容易に溶出したが、*Nocardia* の色素は column から petrol ether 中に溶出しなかつた。したがつて、帯色したカラムに ethanol を加えてこれに溶出し、ethanol 液をいつたん低圧でとばした後、残渣に petrol ether または n-hexane を加えて溶解し、日立分光光電比色計で吸光曲線を測定した。

結 果

Mycobacterium の色素

Mycobacterium から petrol ether で抽出された色素は、petrol ether と 90% methanol の partition で petrol ether に移り、epiphasic pigments と考えられた。これを活性アルミナのカラムに通すと、通常 1 本の黄色帯を示した。この黄色帯の他に、時に、2, 3 の細い黄色帯が現われることがあつたが、太い黄色帯は常に認められた。したがつて、*Mycobacterium* の色素の大部分は、この黄色帯を示す色素であると思われた。こ

Fig. 1. Absorption Spectra of the Pigment of *N. asteroides* R # 443(1) (Upper) and of the Pigment of *M. kansasii* Nagai (low) in n-hexane

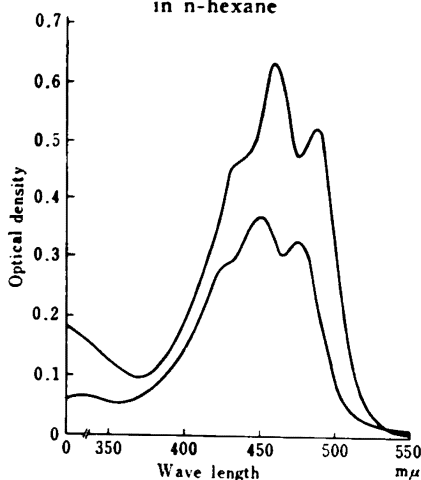


Table 1. Absorption Maxima of a Major Pigment Obtained from Various Chromogenic *Mycobacteria*

Species	Strain	Colour in column	Absorption maxima in n-hexane
<i>M. kansasii</i>	Forbes-84; Bostrum D-35; Nagai	Yellow	425, 450 and 475 mμ
<i>M. scrofulaceum</i>	P-5; P-6; SJ-2; SJ-3; SJ-5; SJ-8; SJ-13; Takahashi; Nakagawa; Ito; Ezaki; Tominaga		
<i>M. aurum</i>	NCTC 10437; 312; 303; 309		
<i>M. phlei</i>	SN 102		

Table 2. Absorption Maxima of a Major Pigment Obtained from Various Pigmented Nocardias

Species name identified in this laboratory	Species name when received	Strain	Colour in column	Absorption maxima in n hexane
<i>N. asteroides</i>	<i>N. corallina</i>	M-78	Reddish	435, 460 and 488 m μ
<i>N. asteroides</i>	<i>N. asteroides</i>	M-206		
<i>N. asteroides</i>	<i>N. asteroides</i>	R # 443(1)		
<i>N. farcinica</i>	<i>N. asteroides</i>	M-179		
<i>N. rubra</i>	<i>N. polychromogenes</i>	M-6		
<i>N. rubra</i>	<i>N. polychromogenes</i>	NRRL 61531		
<i>N. rubra</i>	<i>N. rubropertincta</i>	M-191		
<i>N. rubra</i>	<i>N. rubra</i>	M-1*		
<i>N. rubra</i>	<i>N. minima</i>	M-103*		
<i>N. rubra</i>	<i>N. lutea</i>	M-192*		

* These strains showed another pigment appearing as a minor orange band in the column and showing absorption maxima at 420, 448 and 478 m μ in n-hexane and in petrol ether.

Strains with letter M were received from Dr. I. Uesaka, Kyoto University, who had received them from Dr. N.M. McClung. Strain with letter R was received from Dr. Ruth E. Gordon, Rutgers University.

の黄色色素は petrol ether 中に容易に溶出され、吸光曲線を測定すると β -carotene の吸光極大と一致した(図参照)。すなわち、petrol ether または n-hexane 中で、425 m μ 、450 m μ および 475 m μ に吸光極大を示した。この物質は被検 20 株の *Mycobacterium* のすべてに見出された。したがって、*Mycobacterium* の主要な色素成分は菌種の如何に拘らず、すべて β -carotene 様物質であると考えられた。

Nocardia の色素

種々の *Nocardia* から epiphasic pigments が得られたが、この色素を活性アルミナのカラムを通すと、通常、紅色の太い帯がみられた。このほかにも細い帯が、1, 2 本みられることがあつた。紅色の太い帯をとつて、これから petrol ether で色素を溶出させようとしても容易に溶出しなかつた。そこで、紅色の帯を ethanol で抽出すると、ethanol 中に色素が移行した。この ethanol を減圧して、とばした後、色素を petrol ether または n-hexane に溶かして吸光曲線を測定した。色素の吸光極大は 435 m μ 、458 m μ および 488 m μ (petrol ether または n-hexane) にあつた(図参照)。この吸光極大は γ -carotene の吸光極大 (431 m μ 、462 m μ および 494 m μ)⁸⁾⁹⁾ に最も近いが少しずれている。したがって、その本態を確定できないが、被検 *Nocardia* 10 株から抽出した色素は、菌種の如何に拘らず、すべて同一の吸光極大を示した。

上述の 435 m μ 、458~460 m μ および 488 m μ に吸光極大を示す紅色色素のほかに、3 株では他の色素も検出された。すなわち、3 株では上述の太い紅色帯の他に、細いオレンジ色の帯がみられた。この色素も ethanol 中に溶出し、ethanol をとばした後、petrol ether または n-hexane にとかすと、420 m μ 、448 m μ および 478 m μ に吸光極大を示した。この吸光曲線は xanthophyll ま

たは violaxanthin の吸光極大に類似している⁸⁾⁹⁾。

考 察

本報で得られた結果を総括すれば、*Mycobacterium* 属に属する *M. kansasii*, *M. scrofulaceum*, *M. aurum* および *M. phlei* から得られる主要色素成分は、活性アルミナのカラムで黄色帯を示し、 β -carotene と一致する吸光極大を示す。この結果は被検 4 菌種 20 株ですべて同一であつた。photochromogen である *M. kansasii* の色素も、scotochromogens である *M. scrofulaceum*, *M. aurum*, *M. phlei* の色素もすべて同一成分、すなわち β -carotene 様物質と考えられた。

一方、*Nocardia* 属の *N. asteroides*, *N. rubra*, *N. farcinica* の主要な色素成分は、すべて活性アルミナで紅色帯を示し、 γ -carotene に類似した吸光極大を示した。被検 3 菌種 10 株の色素は全く同一吸光極大を示した。

以上のごとく、*Mycobacterium* の属内では、その主要色素成分は β -carotene 様物質であり、*Nocardia* の属内では γ -carotene 類似物質であると考えられた。*Nocardia* の色素はまだ同定できないが、カラムからとつた紅色帯の吸光極大がすべての菌株で一致することから、全菌株が同一の主要色素を含んでいると考えてよいと思われる。このように、主要色素成分が属により一定していることは分類学的に興味あることと考えられるので報告する次第である。

結 論

Mycobacterium 属の chromogenic species (4 菌種) 20 株から carotenoid 抽出法で抽出された色素の主要成分は、活性アルミナのカラムで黄色帯を示し、 β -carotene と一致する吸光極大 (425, 450, 475 m μ ; petrol ether

または n-hexane) を示した。

一方, *Nocardia* 属の chromogenic species (3 菌種) 10 株から抽出された色素の主要成分は, 活性アルミナのカラムで紅色帯を示し, 435, 460, 488 m μ (petrol ether または n-hexane) に吸光極大を示した。

主要色素成分が属により一定していることは興味深く思われた。

(本報の要旨は昭和 43 年 10 月に日本細菌学会中部支部総会で発表した。)

文 献

- 1) Chargaff, E.: Bakt. Parasitenkunde, 1 Abt., 119: 121, 1930 (Goodwin & Jamikorn より引用).
- 2) Goodwin, T. W. & Jamikorn, M.: Biochem. J., 62: 269, 1956.
- 3) Tsukamura, M.: J. Biochem. (Tokyo), 51: 169, 1962.
- 4) Ebina, T., Motomiya, M., Munakata, K. & Satake, O.: Amer. Rev. Resp. Dis., 86: 740, 1962.
- 5) 東村道雄・水野松司: 医学と生物学, 71: 364, 昭和 40.
- 6) Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 7th ed. Ed. by R. S. Breed, E. G. D. Murray & N. R. Smith, Baltimore, Williams & Wilkins Co., 1957, p. 694.
- 7) 東村道雄: 結核, 42: 45, 昭和 42.
- 8) Karrer, P. & Jucker, E.: Carotenoids. Elsevier Publ., New York, Amsterdam, London, Brussels, 1950.
- 9) Goodwin, T. W.: Adv. in Enzymology, 21: 295, 1959.