

氏 名 池 田 雅 充
いけ だ まさ みち

学位の種類 農 学 博 士

学位記番号 農 博 第 211 号

学位授与の日付 昭 和 50 年 5 月 23 日

学位授与の要件 学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当

研究科・専攻 農 学 研 究 科 農 芸 化 学 専 攻

学位論文題目 **STUDIES ON DIHYDROFOLATE SYNTHETASE**
 (ジヒドロ葉酸合成酵素に関する研究)

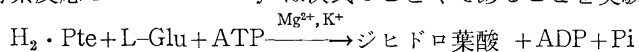
(主 査)
 論文調査委員 教 授 岩 井 和 夫 教 授 満 田 久 輝 教 授 緒 方 浩 一

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は葉酸の生合成能を有する植物および微生物からジヒドロ葉酸合成酵素 (EC 2.5.1.15) をそれぞれ高純度に精製単離し、その酵素的性質および特性を明らかにすると共に本酵素活性と生物の葉酸要求性との関係について検討した成果をとりまとめたものである。

本酵素は植物中に広く分布しており、その細胞内分布を検討したところミトコンドリア様顆粒体に局在することを明らかにした。本酵素は不安定で失活し易いが、この顆粒体から可溶化し抽出した酵素は2-メルカプトエタノール (以下 2-ME と略す) と硫安の添加によって比較的安定に保たれることを見だし、この条件を用いてはじめて発芽エンドウから高純度の酵素標品を精製単離した。本酵素の分子量は約 56,000 で、その活性は PCMB により阻害され、2-ME の添加によって完全に回復された。本酵素反応には基質であるジヒドロプテロイン酸 (以下 $H_2 \cdot Pte$ と略す) と L-グルタミン酸 (以下 L-Glu と略す) の他に ATP, Mg^{2+} および K^+ が必須であり、両基質と ATP には特異性が認められたが、 Mg^{2+} は Mn^{2+} によって完全に、 K^+ は NH_4^+ , Rb^+ によってほぼ完全に代替された。また ADP は阻害作用を呈することが見いだされた。

本酵素は多くの微生物および担子菌類にも広く分布することが認められたが、とくに *Serratia indica* 中の酵素は比活性も強く比較的安定であることを見だし、その菌体から本酵素を高純度に精製単離しその性質を検討した。本酵素の分子量は約 47,000 であって、植物からの酵素と大きく異なる点としては ATP が ITP, GTP によって部分的に代替し得られること、および Mn^{2+} による Mg^{2+} の代替性がかなり劣ることなどを明らかにした。また、抗マラリヤ剤として見いだされたホモプテロイン酸はそのジヒドロ型が特異的に本酵素の活性を著しく阻害することを実証すると共に、 K^+ の本酵素活性に及ぼす影響としては酵素たん白の活性な conformation を保持するのに必要とするのであろうと考え得ることを示した。さらに本酵素反応の stoichiometry は次式のごとくであることを実験的に証明した。



ついで葉酸化合物の栄養要求性を異にする3種類の乳酸菌およびラット肝臓、ニワトリ肝臓を用い、 $H_2 \cdot Pte$ 合成酵素活性およびジヒドロ葉酸合成酵素活性をそれぞれ *in vitro* において検討した結果、*in vivo* における葉酸化合物の栄養要求性と *in vitro* におけるこれらの酵素活性とが良く一致し、葉酸生成の *de novo* 生合成過程においてこれらの酵素が *in vivo* においても重要な役割を果していることを明らかにした。

論文審査の結果の要旨

ジヒドロ葉酸合成酵素 (EC2.5.1.15) はジヒドロプロテイン酸 (以下 $H_2 \cdot Pte$ と略す) と L-グルタミン酸 (L-Glu と略す) からジヒドロ葉酸を生成する反応を触媒する酵素であって葉酸の *de novo* 生合成系の重要な酵素の一つであるが、これまで本酵素については、*E. coli* 以外にはあまり研究されてはいなかった。

本論文では、まず本酵素が植物中に広く分布していることを明らかにすると共に、本酵素がミトコンドリア様顆粒体に局在しており、この顆粒体から可溶化し抽出した酵素は2-メルカプトエタノールと硫安の添加によって安定化されることを見だし、はじめて発芽エンドウの顆粒体から本酵素を高純度に精製単離することに成功し、その酵素的性質を明らかにした。また、著者は、*Serratia indica* 中の本酵素が比活性も強く比較的安定であることを見だし、その菌体抽出液からも本酵素を高純度に精製単離し、その酵素的性質および特性を明らかにした。ことに本酵素反応には基質である $H_2 \cdot Pte$ と L-Glu、および ATP と Mg^{2+} の外に K^+ の存在が必須であることをはじめて実証し、かつその役割についてある程度の解析を加えている。また、従来、抗マラリア剤として見いだされながらその作用点の不明であったホモプロテイン酸は、そのジヒドロ型が本酵素の特異的阻害剤として作用することをはじめて明らかにしている。さらに本酵素反応の stoichiometry を明確にすると共に、この酵素の活性の有無が生物における葉酸の要求性と密接に関係することを実験的に明らかにしている。

以上のように、本研究の成果は酵素学の分野のみならず栄養化学および食糧化学の分野にも貢献するところが甚だ大きい。

よって、本論文は農学博士の学位論文として価値あるものと認める。