

氏名	中 川 進 なか がわ すずむ
学位の種類	農 学 博 士
学位記番号	論 農 博 第 2 3 号
学位授与の日付	昭 和 38 年 6 月 25 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	STUDIES ON A BIOCHEMICAL ROLE OF FOLATE COMPOUNDS IN HIGHER PLANTS (高等植物における葉酸化合物の一生化学的役割に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 岩 井 和 夫 教 授 満 田 久 輝 教 授 中 島 稔

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は高等植物における葉酸化合物の生化学的役割に関して行なった研究の成果をまとめたものであって8章からなっている。

第1章は緒論であって本研究の目的、意義ならびに研究の経過などについて記述している。

第2章では本研究の目的のために葉酸欠乏状態の幼植物を育成することを試みた結果について述べている。試料として小麦およびエンドウの種子を用い、これに種々の濃度のサルファ剤を吸収させてその発芽生長を観察し sulfanilamide では $10^{-2}M$, 5-methyl-3-sulfanilamide isoxazole (MS と略記する) では $10^{-8}M$ で著しくその生長が阻害されることを認めた。このようにサルファ剤によって生長阻害をおこしている幼植物に種々の合成した葉酸化合物 ($10^{-4}M$) を与えるとその阻害が除かれて幼植物の生長が回復してくるが、とくに緑葉中に存在する葉酸化合物に近似した構造のものほどサルファ剤による生長阻害を除く作用が強いことを見出し、サルファ剤による幼植物の生長阻害は植物体内における葉酸化合物の生合成が抑制されることによるものであることを示唆した。

第3章ではMSを吸収させたのち発芽させて生長阻害をおこしているエンドウ幼植物群 (MS群と略記する) ではその体内における葉酸化合物の生合成が阻害されていることを明らかにして第2章における推論を実証した結果について述べている。すなわち、蒸留水で発芽させたエンドウ幼植物群 (正常群と略記する) とMS群とにおける葉酸化合物の消長を6日間にわたって検討した結果、正常群では生長とともに葉酸化合物が著しく生合成されてくるのに対してMS群ではその生合成が強く抑制されていることを明らかにした。またエンドウ幼植物中に生合成される葉酸化合物は葉酸助酵素の形態であってその生成量がMS群では著しくすくないことを tetrazolium bioautography によって確認した。これらの結果から適当な濃度のサルファ剤を吸収させたのち発芽させて得られる生長阻害をおこした幼植物は葉酸欠乏状態であると結論した。

第4章ではMS群と正常群との発芽時における全窒素、アミド態窒素、全リンおよびリボ核酸 (RNA

と略記する)の消長をめばえと子葉とにわけて検討した結果について述べており、MS群ではそれらの代謝がいずれも著しく抑制されていることを明らかにしている。

第5章では第4章の結果によってMS群ではRNAの代謝になんらかの障害が起こっていることからRNAに関連する代謝中間物質がその体内に蓄積される可能性があることを想定し、その代謝中間物質の検出について検討した結果を述べている。すなわち、MS群と正常群との幼植物をめばえと子葉とにわけ、それぞれのホモジエネートのろ液の濃縮液についてクロマトグラフ法によって種別検討をした結果、ニンヒドリン反応、オルシン反応およびリン酸エステル検出反応に陽性な物質がMS群のみに特異的に蓄積されていることを見出した。

第6章では代謝中間物質の単離精製法とその化学構造に関して検討を行なった結果について述べている。著者はMS群のエンドウ幼植物のめばえ1kgのホモジエネートから主としてDowex-1のカラムクロマトグラフ法によってこの物質16.5mgをBa塩として純粋に単離することに成功し、この物質のRf値、その構成成分の種類と分子比、元素分析ならびに赤外吸収スペクトルなどの結果からこのものはN-glycyl-5-phosphoribosylamine (glycinamide ribonucleotide, GARと略記する)であることを同定し葉酸欠乏状態のエンドウ幼植物中に特異的に蓄積される物質はGARであることを証明した。

第7章ではMS群および正常群のエンドウ幼植物にGARの前駆体と考えられるグリシン-1-C¹⁴を吸収させる *in vivo* の実験によって高等植物におけるグリシンからのプリンスクレオチドの生合成経路について検討し、MS群では正常群に比べてグリシン-1-C¹⁴のGAR画分へのとりこみが2倍以上高いのたいしてRNA画分へのとりこみは著しく低く、とくにRNAを構成しているプリンスクレオチドへのとりこみが葉酸欠乏状態であるMS群でははなはだしく低いことを見出した。これらの結果から高等植物においてもグリシンからGARを経由するプリンスクレオチドの生合成経路が存在し、かつGARが葉酸欠乏状態の幼植物に特異的に蓄積されることから高等植物における葉酸化合物の生化学的役割のひとつは植物体におけるプリンスクレオチドの生合成においてその代謝中間物質であるGARの代謝における助酵素として直接的に関与することであると結論している。

第8章は要約ならびに結論である。

論文審査の結果の要旨

葉酸化合物は人間やサル、抗貧血因子として、またヒナやある種の微生物にたいする生長促進因子として見だされてきたビタミンB群のひとつであって、動物、植物、微生物中に広く分布することが知られており、近年、動物および微生物においては核酸関連化合物やアミノ酸類の代謝における-CHO基、-CH₂OH基、-CH=NH基などの1-C単位の酵素的転移反応の助酵素として作用することが明らかにされて生体におけるその生化学的役割の重要性が注目されてきているものである。本来、葉酸という名称は緑葉中に多く含まれている乳酸菌の生長因子としてラテン語の“folium”にちなんで名付けられたのであるが、高等植物におけるその生化学的役割についてはほとんど不明のままであった。

本研究ではこの問題を解明するために、まず葉酸欠乏状態の幼植物を育成することを試み、種子に適当な濃度のサルファ剤を吸収させたのち発芽させて得られる生長阻害をおこした幼植物が目的とする葉酸欠

乏状態のものであることを証明した。つぎに、このような葉酸欠乏状態のエンドウ幼植物中に特異的に蓄積される代謝中間物質を発見してこれを単離し、この物質が glycinamide ribonucleotide であることを実証した。この物質は動物や微生物においてプリンヌクレオチドの生合成における初期の代謝中間物質としてすでに知られていたものではあるが、このものが植物から単離・同定されたのはこれが初めてであつてその意義はきわめて大きい。

さらに著者はグリシン-1-C¹⁴を用いた *in vivo* の実験によって高等植物においてもグリシンから glycinamide ribonucleotide を経由するプリンヌクレオチドの生合成経路が存在することを証明して、高等植物における葉酸化合物の生化学的役割のひとつは glycinamide ribonucleotide の代謝における助酵素として関与することであることを初めて明らかにしたのである。

以上、著者の行なった研究の成果は方法論的にこの方面の研究に多くの示唆を与えるばかりでなく、この分野の生化学の発展に貢献するところすこぶる大である。よつ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。