

氏名	味園春雄 み その はる お
学位の種類	農学博士
学位記番号	農博第 135 号
学位授与の日付	昭和 46 年 7 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 L-LYSINE-α- KETOGLUTARATE ϵ-AMINOTRANSFERASE (L-リジン- α -ケトグルタル酸 ϵ -アミノトランスフェラーゼに関する研究)
論文調査委員	(主査) 教授 山本龍男 教授 緒方浩一 教授 枋倉辰六郎

論文内容の要旨

本論文は細菌におけるリジン代謝に関連して L-リジン- α -ケトグルタル酸 ϵ -アミノトランスフェラーゼを精製，結晶化し，その酵素化学的ならびに物理化学的性質とビタミン B₆ 酵素としての触媒機構について研究した結果をとりまとめ考察を加えたものである。

まず本酵素反応において L-リジンの末端アミノ基が α -ケトグルタル酸に転移され，L-グルタミン酸と α -アミノアジピン酸 δ -セミアルデヒドが生成し，後者は非酵素的に脱水閉環して Δ^1 -ピペリダイン-6-カルボン酸に変化することを証明した。

ついで本酵素を *Achromobacter liquidum* の無細胞抽出液から DEAE-セルロースカラムクロマトグラフィー，加熱処理，ハイドロキシルアパタイトカラムクロマトグラフィーなどによって精製し，黄色桿状の結晶酵素を得た。

本結晶酵素は超遠心的，電気泳動的に単一であり，酵素蛋白 1 分子あたり 2 分子のピリドキサールリン酸 (PLP) が結合し，415m μ と 340m μ に結合型 PLP に由来する吸収極大を有している。ホロ酵素をアミノ基供与体あるいはカルボニル試薬で処理することにより 415m μ の吸収ピークは消失し，340m μ にもみ吸収極大を有する不活性型酵素が得られた。この不活性型酵素はなお 1 分子の PLP と結合しているという特殊な酵素の存在形態であることを明らかにして，これをセミアポ型酵素と命名した。さらに PLP と酵素蛋白との結合様式について調べ，反応に直接関与する PLP は 4 位のホルミル基が酵素蛋白のリジン残基の ϵ -アミノ基とアルジミン結合を形成して 415m μ に吸収極大を示すことともに，この結合様式は低温に放置すると 325m μ 付近に吸収ピークを示す別の結合に変化することを明らかにした。一方 340m μ に吸収極大を示し，セミアポ型酵素にも結合している PLP は酵素蛋白のリジン残基の ϵ -アミノ基とともに他の官能基とも結合して，いわゆる置換型アルジミン結合を形成していることを推論した。

さらに本酵素反応は binary mechanism で進行し，酵素蛋白に結合している PLP がアミノ基供与体である L-リジンの ϵ -アミノ基とのアルジミン結合を形成し，ケチミン型中間体の加水分解を経てアミノ

基の転移が行なわれることを明確にした。

論文審査の結果の要旨

L-リジンの関与するアミノトランスフェラーゼについては従来その存在が否定視されていたほどで、これに関する研究にきわめて少ない。近年になって L-リジンと α -ケトグルタル酸間のアミノ基転移反応が *Flavobacterium fuscum*, *Flavobacterium flavescens* および, *Achromobacter liquidum* などの細菌に存在することが知られ, L-グルタミン酸の生成が証明されたが, L-リジンの α , ϵ の両アミノ基のうちどちらが転移されるかについては全く不明の状態であった。

著者はまず *Flavobacterium fuscum* の酵素を用いて, L-リジンからの生成物の単離と性質の解明を行ない, 結論として L-リジンの末端アミノ基が転移され, α -アミノアジピン酸 δ -セミアルデヒドが生じ, この化合物は非酵素的に脱水閉環して最終的には Δ^1 -ピペリダイン-6-カルボン酸生成することを明らかにした。

Achromobacter liquidum の無細胞抽出液から L-リジン α -ケトグルタル酸 ϵ -アミノトランスフェラーゼを精製し, ω -アミノトランスフェラーゼとしては最初に結晶状に単離することに成功した。

また本酵の酵素化学的および物理化学的諸性質を明らかにして, 補酵素の面から特殊な酵素の存在形態を確認してセミアポ型酵素という名称を与えた。

さらにピリドキサールリン酸と酵素蛋白の結合様式ならびに反応機構に関して検討した結果, アルジミン結合, 置換型アルジミン結合, 水和型アルジミン結合の3種の結合様式が存在することを推論した。本酵素反応においては L-リジンの末端アミノ基とピリドキサールリン酸がアルジミン結合を形成してケチミン型中間体の加水分解過程を経て末端アミノ基が転移される機構を明らかにした。

以上のように本論文は L-リジン- α -ケトグルタル酸 ϵ -アミノトランスフェラーゼの反応の性質を明らかにし, 精製, 結晶化してその性質と触媒反応機構を解明したもので酵素化学ならびに微生物化学の分野に貢献するところが大きい。

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。