

氏名	森田裕 もり た ひろし
学位の種類	農学博士
学位記番号	農博第297号
学位授与の日付	昭和54年3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 the Enzymatic Formation of Glycolaldehyde in Vitamin B ₆ Biosynthesis (ビタミン B ₆ 生合成における glycolaldehyde の酵素的生成に 関する研究)
論文調査委員	(主査) 教授 山田秀明 教授 岩井和夫 教授 栃倉辰六郎

論文内容の要旨

本論文は、ビタミン B₆(B₆) 生合成の前駆体である glycolaldehyde の生成経路を明らかにし、その生成に関与する酵素 glycolaldehyde dehydrogenase (GADH) を部分精製して酵素化学的諸性質を究明するとともに、各種 B₆ 化合物による本酵素の調節機構について検討した結果をまとめたものである。

著者は、glycolaldehyde の生成経路を明らかにするために、*E. coli* B の野生株 (WG 1) および B₆ 要求性変異株 (WG 3) の無細胞抽出液を用い、glycolaldehyde を生成する可能性のある諸酵素活性を比較検討した。Ethanalamine の酸化的脱アミノ反応では、野生株と B₆ 要求株で有意の差がなく、また L-serine の脱炭酸反応は両者ともに認められなかった。しかし glycolate の還元反応においては、野生株にのみ活性が顕著に認められ、B₆ 要求株では全く認められなかった。

野生株の GADH は DEAE-セルロースカラムクロマトグラフィーによってそれぞれ酵素化学的性質を異にする A, B, C の 3 種の isozymes に分離されるが、B₆ 要求株では isozyme A のみで、isozymes B および C が欠損しており、また B₆ 要求株からえられる復帰変異株では isozymes A および C が見いだされ、isozyme C が復帰していることが認められた。

野生株より部分精製した GADH の isozymes A, B および C は、基質や阻害剤に対する特異性などにおいてそれぞれ異なった酵素化学的性質を示したが、とくに見かけの平衡定数の測定から、isozyme A では glycolate 生成に、isozymes B および C では glycolaldehyde 生成に反応平衡が傾いていることを明らかにした。また野生株を用いてこれらの GADH isozymes の細胞内局在性を検討したところ、isozyme A は細胞表層に、isozymes B および C は細胞質に局在することを明確にした。

さらに著者は、GADH の isozyme C は B₆ によって阻害され、また isozymes B および C は B₆ によって生成が抑制されるなど、B₆ 化合物による本酵素の活性および生成の調節機構を見いだしている。

これらの結果から、*E. coli* の B₆ 生合成における前駆体 glycolaldehyde は、glycolate より GADH の isozymes B および C の作用によって生成することが明らかである。なお著者は、この種の GADH 活性が

広く細菌に分布していることを見だし、精製した *Bacillus subtilis* の酵素においてもこの活性が *E. coli* と同様に B₆ によって調節されることを明らかにしている。

論文審査の結果の要旨

ビタミン B₆(B₆) は、生体のアミノ酸代謝などに関する酵素類の補酵素として重要な役割を演じており、医薬、飼料添加物などに用いられている。B₆ の生合成については、6 種類の B₆ 化合物の相互転換機構が明らかにされているのみで、ほとんど解明されていなかった。近年、*E. coli* B の B₆ 要求性変異株による ¹⁴C-glycolaldehyde の取込み実験から、glycolaldehyde が生合成前駆体であることが明らかにされたが、この glycolaldehyde がどのような経路で生成するかについては不明であった。

著者は、*E. coli* B の野生株(WG 1)と B₆ 要求性変異株(WG 3)を用いて、まず glycolaldehyde の生成経路について詳細に検討した。予想された ethanolamine を経由する L-serine からの経路は全く認められなかった。しかし、glycolate を還元して glycolaldehyde を生成する酵素活性が、野生株では顕著に認められるのに対して、B₆ 要求株では認められないことから、この還元反応が B₆ 生合成に重要な役割をもつことを推定した。

ついで、この還元反応に関与する glycolaldehyde dehydrogenase(GADH)を、野生株および B₆ 要求株より精製したが、野生株の GADH は A, B, C の 3 種の isozymes に分離されるのに対して、B₆ 要求株では isozyme A のみであって、isozymes B および C を欠損しており、また復帰変異株では isozyme C が復帰していることを見いだした。さらに isozymes A, B および C の酵素化学的性質を究明したが、とくに見かけの平衡定数の測定から、isozymes B および C においては反応の平衡が glycolaldehyde 生成に傾いていることを明らかにした。これらの結果は、*E. coli* の B₆ 生合成において、glycolaldehyde は glycolate より GADH の isozymes B および C の作用によって生成することを明確に示すものである。

さらに著者は、GADH の isozyme C の活性が B₆ によって阻害され、また isozymes B および C の生成が B₆ によって抑制される現象を見いだした。これは、B₆ 生合成の調節機構をはじめて酵素レベルで明らかにしたものであり興味深い。

なお著者は、この種の GADH 活性が広く細菌に分布し、しかもこの活性が B₆ によって調節されることを見いだしている。

以上のように本論文は、従来不明であった B₆ の生合成研究に重要な新知見を加えたものであり、微生物生理学、ビタミン学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。