

氏名	松田英幸 まつだひでゆき
学位の種類	農学博士
学位記番号	論農博第816号
学位授与の日付	昭和54年9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	BIOCHEMICAL STUDIES ON GALACTOLIPASES IN HIGHER PLANTS (高等植物のガラクトリパーゼに関する生化学的研究)

論文調査委員 (主査) 教授 駒野 徹 教授 高橋英一 教授 鬼頭 誠

論文内容の要旨

ガラクト脂質は植物に特有の脂質成分で、特に塊茎や緑葉の生体膜の主要脂質成分として機能的に重要な役割を果しているものと考えられている。そしてガラクトリパーゼはこのガラクト脂質を加水分解する酵素である。本論文においては植物塊茎、種子及び緑葉よりガラクトリパーゼを分離・精製し、その性質を明らかにしようとしたもので、内容は次の諸点に要約できる。

1. 従来行なわれていたガラクト脂質の分析方法に改良を加え、より迅速で精度の高いローダミン法を確立した。

2. ガラクトリパーゼは極めて不安定で精製困難であったのを、パルミトイル化ガーゼを用いたアフィニティー・クロマトグラフ法で初めて安定に分離・精製することに成功した。約20種類の植物組織についてガラクトリパーゼ活性を調べ、その中から特に馬鈴薯塊茎、米粒及び緑葉中のガラクトリパーゼについて詳細に検討した。

3. 馬鈴薯塊茎、米粒、並びに馬鈴薯及びインゲンの緑葉からそれぞれガラクトリパーゼを約200~500倍精製して酵素化学的性質を比較している。これら精製酵素はいずれも単一タンパク質から成り、モノ及びジガラクトシルグリセリドを分解したが、各種リン脂質にも作用した。酵素阻害剤を用いた実験結果から酵素の活性中心は1つで、セリンまたはヒスチジン残基が活性に関与していた。これら精製酵素の分子量は、それぞれ70,000, 40,000, 110,000及び90,000であり、等電点は5.4, 7.3, 4.6及び4.4であった。さらにこれらはSDSポリアクリルアミド電気泳動によって低分子タンパク質に解離することからサブユニット構造をとっていると考えられた。

4. 馬鈴薯塊茎酵素は、ガラクトース等のガラクト脂質分解生成物によってガラクトリパーゼ活性が、また α -グリセロリン酸等のリン脂質分解生成物によってホスホリパーゼ活性が、それぞれ選択的に阻害された。この阻害は可逆的であつ基質分子と拮抗することが認められた。馬鈴薯塊茎酵素はリソゾーム様顆粒に可溶性の形で存在していたが、緑葉酵素は酵素活性の70—80%がクロロプラスト画分の膜に結合し

て存在していた。

論文審査の結果の要旨

ガラクトリパーゼはガラクト脂質のエステル結合を加水分解する酵素で、植物組織中に広く分布している。本論文は、各種植物、及び組織に存在するガラクトリパーゼの分布及び活性を調べ、それらの中で特に馬鈴薯塊茎、米粒、並びに馬鈴薯及びインゲン緑葉からそれぞれガラクトリパーゼを分離・精製し、それらの性質を明らかにするとともに、生理的役割についても検討を加えた結果をまとめたものである。

著者は先ずガラクト脂質の分析にローダミン法を適用し、従来行ない得なかったガラクト脂質の微量で迅速、かつ高精度の分析を可能にした。またこれまで精製困難であったガラクトリパーゼをアフィニティー・クロマトグラフ法ではじめて安定に分離・精製できることを明らかにした。

つぎに著者は、特徴的に機能の異なる植物組織、すなわち塊茎として馬鈴薯、種子として米粒、並びに緑葉として馬鈴薯及びインゲンをを用い、これらからそれぞれガラクトリパーゼを分離・精製した。約 200～500 倍に精製されたガラクトリパーゼはそれぞれ単一の酵素タンパク質より成り、ガラクト脂質を基質とするが、リン脂質も基質とし、活性化に特定の金属イオンを必要とせず、酵素の活性中心にはセリンまたはヒスチジン残基が関与していることなどを明らかにした。さらに分子量はそれぞれ70,000, 40,000, 110,000及び90,000と決定したが、SDS アクリルアミド電気泳動法による解析の結果サブユニット構造をとっていることを認めている。

ガラクトリパーゼ活性は植物の組織の脂質組成に対応して活性は高く、馬鈴薯塊茎酵素の場合はガラクト脂質分解生成物によってガラクトリパーゼ活性が、リン脂質分解生成物によってホスホリパーゼ活性がそれぞれ選択的に阻害されたことなどから、著者は、ガラクトリパーゼによる膜脂質の分解における広い基質特異性と生理的役割について考察を加えている。

このように本論文は植物のガラクトリパーゼについて基本的性質を明らかにしたもので、脂質生化学、植物生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。