

【 309 】

|         |  |
|---------|--|
| 氏名      | 佐々木 隆 造  |
|         | さ さ き りゆう ぞう   |
| 学位の種類   | 農学博士   |
| 学位記番号   | 農博第74号   |
| 学位授与の日付 | 昭和41年9月27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  | <b>Structure and Catalytic Activity of Crystalline Yeast Phosphoglyceric Acid Mutase</b><br>(結晶酵母リングリセリン酸ムターゼの構造と活性について) |
| 論文調査委員  | (主査)<br>教授 満田久輝 教授 緒方浩一 教授 森田雄平  |

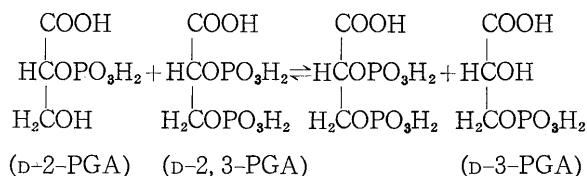
論 文 内 容 の 要 旨

パン酵母の自己消化液から調製した Phosphoglyceric acid mutase (PGA mutase) 結晶標品は超遠心的には均一であるが、電気泳動的に多型 (5 components) である。各 component は比活性は異なるが結晶形および酵素的性質は同一の PGA mutase タンパクであるから、著者はこれらの各 component の成因の研究が酵素の触媒能力とタンパク構造の関係を明らかにする好材料と考え、各 component についてアミノ酸分析、差スペクトル、旋光分散、超遠心分析などを用いて PGA mutase タンパクの構造を研究している。その結果著者は結晶酵素標品中最高比活性の component I が抽出時に PGA mutase-modifying enzyme により最小比活性の component V に移行することを明らかにした。この際 component I 1 モル (分子量: 112,000) 当たり、リジン (7 個)、アスパラギン (4 個)、グルタミン (4 個)、グリシン (6 個)、アラニン (10 個)、バリン (4 個) が遊離することを確認し、PGA mutase-modifying enzyme の反応機構は限定水解であり、5 個の component の電気泳動上の易動度の差はリジン含量の差に起因することを証明している。また component I と V の全アミノ酸組成も決定している。

Trinitrobenzensulfonate (TNBS) はアミノ基と特異的に反応するが、PGA mutase 1 モル当たり92 個存在するリジンのうち、とくに3 個が TNBS とよく反応する。しかもこの3 個が TNBS と反応すると PGA mutase 活性は失われる。また PGA mutase は尿素溶液中で subunit に開裂される。各 subunit の分子量はほとんど同一であるが、PGA mutase 1 モル当たり SH 基が1 個しかないことより、各 subunit は異なるアミノ酸組成を有する polypeptide chain と考えられる。8 M 尿素溶液により完全に変性した PGA mutase タンパクは適当な条件で尿素濃度を下げると、完全に活性を回復することを見だし、さらに活性回復の条件を詳細に検討している。活性回復酵素を結晶化し、酵素化学的、タンパク化学的性質を種々検討した結果、未変性酵素のそれと同一であることを実証している。これらの結果は、タンパクの高次構造はその一次構造 (アミノ酸の配列順序) によって規定されることを示している。

## 論文審査の結果の要旨

酵素の触媒作用はタンパクの構造により厳密に規定されている。酵素の特異作用とタンパク構造との関係を明らかにすることは生化学上重要な課題である。PGA mutase は以下に示すようにリン酸の転位を触媒する酵素である。



結晶酵素標品中の 5 components のうち component I が元来酵母細胞中に存在する native PGA mutase であり、これが抽出時に、共存する PGA mutase-modifying enzyme の攻撃を受けて順次、比活度の低い、易動度の大きい component II, III, IV に変化し最終産物 component V となる。component I と V は高次構造にほとんど差のないことを旋光分散、紫外部差スペクトルにより明らかにし、また化学試薬を用いて component I の触媒能力に必須であるアミノ酸残基を検討し、さらに PGA mutase の未変性状態での高次構造は主に疎水結合 (hydrophobic bond) によって維持されており、尿素溶液中で subunit に開裂されることを超遠心的に実証している。

本研究は酵素の尿素変性とその可逆性に関し、きわめて興味ある業績であり、学界において高く評価され、酵素化学、タンパク化学に寄与するところきわめて大きい。

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。