

氏 名	鈴 木 襄 すず き のぼる
学 位 の 種 類	農 学 博 士
学 位 記 番 号	論 農 博 第 381 号
学位授与の日付	昭 和 47 年 3 月 23 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 the Enzymatic Synthesis and Metabolism of Folate Coenzymes in Plants

(植物における葉酸補酵素の酵素的生成と代謝に関する研究)

論文調査委員	(主 査) 教 授 岩 井 和 夫 教 授 満 田 久 輝 教 授 千 葉 英 雄
--------	--

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は植物における葉酸補酵素の生成、代謝、役割などを酵素的に解明することを目的として行なった研究成果をとりまとめたものである。内容を要約すると次のようになる。

1. エンドウ種子は各種の葉酸拮抗体によってその発芽・伸長が抑制されるが、これは植物中に dihydrofolate reductase (EC 1.5.1.3) が存在しその活性の阻害によるものであることを精製した酵素標品を用いて明らかにし、補酵素型のテトラヒドロ葉酸 (以下 FAH_4 と略す) およびその誘導体が植物の生長・分化に不可欠であることを実証した。

2. 植物中の葉酸補酵素の生成代謝に関与する formyltetrahydrofolate synthetase (EC 6.3.4.3) をエンドウ幼植物から精製してその性質を調べた。本酵素は硫安によって安定化されるばかりでなくその活性が促進された。硫安によるこの活性化は基質であるギ酸の km 値を約 1/5 に減少させることによるものであった。この結果などから NH_4^+ がこの酵素に対する “allosteric effector” として作用することを明らかにした。

3. 葉酸欠乏状態のエンドウ幼植物中には特異的にジアゾ反応陽性物質が蓄積されることを見出し、この物質を単離して 5'-phosphoribosyl-5-amino-4-imidazolecarboxamide (以下 AICA-ribotide と略す) であることを同定した。また、この AICA-ribotide を基質としてイノシン酸を生成する反応を触媒する酵素 AICA-ribotide formyltransferase (EC 2.1.2.3) をエンドウ幼植物からはじめて精製し、この酵素反応には 10-formyl- FAH_4 が必要であることを明らかにして植物におけるプリンヌクレオチドの生合成には葉酸補酵素が直接的に関与することを証明した。

4. この 10-formyl- FAH_4 は methenyl- FAH_4 cyclohydrolase (EC 3.5.4.9) および methylene- FAH_4 dehydrogenase (EC 1.5.1.5) の触媒作用による葉酸補酵素相互の転換反応によっても生成されることをそれぞれ精製した酵素標品を用いて明らかにした。また同時にこれらの酵素によって 5,10-methenyl- FAH_4 および 5, 10-methylene- FAH_4 のような重要な葉酸補酵素も生成転換されることを示した。いっぽう、

methenyl-FAH₄ cyclohydrolase は種々の補酵素型葉酸化合物によって阻害されるという特殊性を見出した。この結果から葉酸補酵素は植物体内においてはそれぞれ相当する酵素群によって単独に、あるいは相互転換によって合理的に生成調節され平衡を保っていることを示した。

論文審査の結果の要旨

葉酸類は生体内における 1 炭素単位 of 転移反応にあずかる補酵素として作用するビタミンである。植物中における葉酸類の存在形態は補酵素型のテトラヒドロ葉酸（以下 FAH₄ と略す）の誘導体であることが実証されてきたが、その生成、代謝ならびに生化学的役割に関する知見は極めて少ない。この論文は植物における葉酸補酵素の生成、代謝、役割を酵素的に解明することを目的として研究したものである。

著者はエンドウ幼植物を材料に用い、葉酸補酵素の生成・代謝に関与する酵素として dihydrofolate reductase (EC 1.5.1.3), formyl-FAH₄ synthetase (EC 6.3.4.3), methenyl-FAH₄ cyclohydrolase (EC 1.5.1.5), methylene-FAH₄ dehydrogenase (EC 3.5.4.9) を検出し、それぞれを精製してその酵素的性質を検討した。まず、dihydrofolate reductase の *in vitro* における特異的阻害剤である各種の葉酸拮抗体は *in vivo* におけるエンドウ種子の発芽・伸長をも抑制することから補酵素型葉酸が植物の生長・分化に不可欠であることを実験的に明らかにした。いっぽう、葉酸拮抗体を用いて人為的に葉酸欠乏状態としたエンドウ幼植物中にはプリンヌクレオチド生合成の中間体として知られている。

5'-phosphoribosyl-5-amino-4-imidazolecarboxamide（以下 AICA-ribotide と略す）が特異的に蓄積されることを見出し、これを植物組織からはじめて単離同定すると共に、その代謝には 10-formyl-FAH₄ を補酵素とする AICA-ribotide formyltransferase (EC 2.1.2.3) が関与することを実証した。この結果、植物におけるプリンヌクレオチドの生合成には葉酸補酵素が直接的に関与することが明らかとなった。また、植物中の 10-formyl-FAH₄ は formyl-FAH₄ synthetase によって FAH₄ より生成されるが、この外にも methenyl-FAH₄ cyclohydrolase および methylene-FAH₄ dehydrogenase によっても転換生成される経路が存在することを明らかにした。このことは同時にこれらの酵素によって 5,10-methenyl-FAH₄ および 5,10-methylene-FAH₄ のような重要な葉酸補酵素が生成転換されることを示している。いっぽう、methenyl-FAH₄ cyclohydrolase は補酵素型葉酸化合物によって阻害されるという特殊性を見出し、植物における葉酸補酵素の生成転換は各種の葉酸補酵素それ自体によっても調節され動的平衡を保っていることを示した。

以上のように本論文は植物における葉酸補酵素の生成、代謝に関して多くの基礎的新知見を加えたものであって食糧化学、酵素学および植物生化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。