

氏 名	柴 田 克 己 しば た かつ み
学位の種類	農 学 博 士
学位記番号	農 博 第 326 号
学位授与の日付	昭 和 55 年 5 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 食 品 工 学 専 攻
学位論文題目	STUDIES ON CRYSTALLINE QUINOLINATE PHOSPHORIBOSYLTRANSFERASES FROM ALCALIGENES EUTROPHUS SUBSP. QUINOLINICUS AND HOG KIDNEY (<i>Alcaligenes eutrophus</i> subsp. <i>quinolonicus</i> 及び豚腎臓からの結晶 Quinolate phosphoribosyl transferasesに 関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 岩 井 和 夫 教 授 千 葉 英 雄 教 授 上 久 保 正

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は *Alcaligenes eutrophus* subsp. *quinolonicus* 及びブタ腎臓からそれぞれ quinolate phosphoribosyltransferase (E. C. 2. 4. 2. 19) (以下 QPRTase と略記する) を結晶状に精製単離し、その物理化学的性質、酵素的性質、種々の添加物質の影響並びに活性中心のアミノ酸残基について比較検討し、その成果をまとめたものである。

まず両結晶酵素の比活性を比較したところ、*Alcaligenes* の QPRTase はブタのそれよりも約86倍も高い比活性を有していたが、両酵素の分子量及びその他の物理化学的諸性質は比較的類似していることを認めた。また両酵素ともにフタル酸によって拮抗的に顕著に阻害されることを見いだした。ついで化学修飾実験によって検討した結果、両酵素の活性中心附近にはいずれもアミノ基、SH 基及びイミダゾール基の存在が示唆されたが、両酵素のアミノ酸組成にはかなりの相異点があった。

酵素的性質については *Alcaligenes* の QPRTase の作用至適 pH は 9.5、反応機構は sequential 形式で、キノリン酸に対する K_m 値は $1.33 \times 10^{-4} M$ 、5-ホスホリボシル-1-ピロリン酸 (以下 PRPP と略記する) に対する K_m 値は $1.11 \times 10^{-4} M$ であった。いっぽう、ブタ腎臓の QPRTase の作用至適 pH は反応液中の PRPP の濃度が 1 mM の時には 5.5 と酸性側にあり、0.4 mM の時には 9.0 とアルカリ側にあった。これはブタ腎臓の QPRTase がアルカリ側の pH においては過剰の PRPP によって阻害されるのに対し酸性側 pH では阻害されないこと、及び低濃度の PRPP の時にはアルカリ側の pH におけるほうが酸性側の pH におけるよりも高い活性を示す特性を有していることに起因していた。また、反応機構は ping-pong 形式で、キノリン酸に対する K_m 値は $4.0 \times 10^{-5} M$ 、PRPP に対する K_m 値は $1.4 \times 10^{-5} M$ であった。

Alcaligenes の QPRTase の活性はピコリン酸、フルタル酸、ATP・GTP のようなリン酸化合物、2価の金属イオン及び反応生成物であるニコチン酸モノヌクレオチドによって阻害された。ブタ腎臓の QPRTase の活性も同様に阻害されたが、さらにピラジン-2、3-ジカルボン酸によっても阻害された。また反応生成物であるニコチン酸モノヌクレオチドによって阻害されず、中性及びアルカリ性において基質であ

る PRPP によって阻害される特性を有していた。また同様な特性はブタ肝臓の QPRTase も有していることをその結晶酵素を用いて確認した。

論文審査の結果の要旨

B群ビタミンのうち、ニコチン酸は微生物や植物ではアスパラギン酸から生合成されることが知られており、哺乳動物ではトリプトファンからニコチンアミド・アデニンジヌクレオチド（以下NADと略記する）として生合成されることが明らかにされている。Quinolate phosphoribosyltransferase(E.C.2.4.2.19)（以下 QPRTase と略記する）はこれらの NAD *de novo* 生合成系における共通の key enzyme であって、キノリン酸と5-ホスホリボシル-1-ピロリン酸（以下 PRPP と略記する）とからニコチン酸モノヌクレオチドの生成反応を触媒する酵素である。

本論文ではこの QPRTase を土壌中から新しく分離されたバクテリア *Alcaligenes eutrophus* subsp. *quinolonicus* の菌体及びブタ腎臓からそれぞれはじめて結晶状に精製単離することに成功し、その物理化学的性質、酵素的性質、種々の添加物質の影響並びに活性中心のアミノ酸残基について詳細に比較検討し、それらの諸特性を明らかにしている。すなわち、まず両結晶酵素の比活性を比べたところ、*Alcaligenes* の QPRTase はブタ腎臓のそれよりも約86倍も高い比活性を有していたが、両酵素の分子量及びその他の物理化学的諸性質は比較的良好に類似していることを認めた。しかしアミノ酸組成にはかなりの相異点があることを明らかにした。またブタ腎臓酵素はピラジン-2, 3-ジカルボン酸によっても阻害されることを見いだした。さらに、*Alcaligenes* の QPRTase の作用至適 pH は 9.5, 反応機構は sequential 形式であって、反応生成物であるニコチン酸モノヌクレオチドによって阻害されるのに対して、ブタ腎臓の QPRTase の作用至適 pH は PRPP の濃度によって変化し、PRPP の濃度が 1mM の時には 5.5 と酸性側にあるが 0.4mM の時には 9.0 とアルカリ側になること、及びこの酵素の反応機構は ping-pong 形式であって、中性及びアルカリ性では基質である PRPP によって阻害される特性を有することを明らかにしている。この特性は QPRTase の活性が動物体内では PRPP のレベルによって調節されている可能性を示唆するものであって注目に値する。

このように本論文はバクテリア及びブタ腎臓から NAD *de novo* 生合成系の key enzyme である QPRTase をはじめて結晶状に精製単離してその酵素的特性をはじめて明白にすると共に、天然に見いだされる QPRTase には少なくともその酵素的性状を異にする2つのタイプのものが存在することを明らかにしたものであって、酵素学並びにビタミン学の分野に貢献するところは大きい。

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。