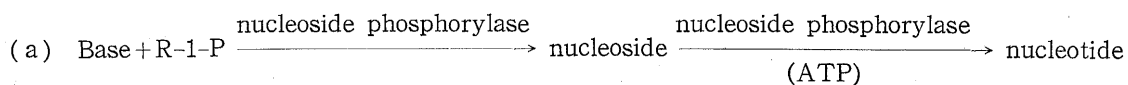


氏 名	長 野 雄 治 なが の ゆう じ
学 位 の 種 類	農 学 博 士
学 位 記 番 号	論 農 博 第 136 号
学位授与の日付	昭 和 41 年 6 月 21 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 題 目	STUDIES ON THE BIOSYNTHESIS OF NUCLEOTIDES FROM NUCLEIC ACID BASES (核酸塩基よりのヌクレオチドの生合成に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 小野寺幸之進 教 授 満田久輝 教 授 緒方浩一

論 文 内 容 の 要 旨

ヌクレオチドは生化学的にも工業的にも重要な物質であるが、本論文は生化学的な立場からその製造法の基礎となる知見をうるために行なった研究結果を論述したものである。

現在知られているかぎりでは purine ribonucleotide の生合成経路には次の二つが存在する。一つはグルコースから ribose-5-phosphate, 5-phosphoribosylpyrophosphate (PRPP) などの約10種類の間接体を経てヌクレオチドにいたる *de novo* 合成で、他は既成の核酸塩基が存在し、これを利用してヌクレオチドが合成される salvage 合成である。後者の場合はさらに



(b) $\text{Base} + \text{PRPP} \xrightarrow{\text{nucleotide pyrophosphorylase (ビール酵母)}} \text{nucleotide}$ の二つの経路が知られている。

著者はヌクレオチドの生産には (b) の経路が最も有利であることに着目し、*Micrococcus glutamicus* を用いて核酸塩基からのヌクレオチド生合成を追究した。

M. glutamicus の無細胞抽出液はオロチン酸, PRPP, Mg^{2+} の存在で 5'-UMP を生成する。すなわち $\text{オロチン酸} + \text{PRPP} \rightleftharpoons 5'\text{-UMP} + \text{CO}_2 + \text{PPi}$ を触媒する orotidine-5'-monophosphate pyrophosphorylase の存在が確認された。この反応では 295 m μ でオロチン酸の吸収のみが現われるので、反応初期10分間の O.D. の測定によって酵素活性を求めることができることを知り、それを利用して酵素活性の測定法を設定した。この方法によってバクテリア中の本酵素の分布をしらべ、*Micrococcus* 属と *Pseudomonas* 属にとくに強い酵素活性が認められることを明らかにした。

M. glutamicus の無細胞抽出液を部分精製してえられた30倍の比活性をもつ酵素液について酵素化学的諸性質をしらべ、この酵素は EDTA で失活するが、 Mg^{2+} の再添加によって活性が再生されることを明

らかにした。

OMP pyrophosphorylase の作用によってオロチン酸と PRPP とが反応して 5'-UMP が生成する過程は 295 m μ の O.D. の測定によって追跡できるので、これに基づいて PRPP の微量定量法 (10⁻¹ μ M) を設定した。さらにこれを拡大して nucleotide pyrophosphorylase の一般的測定法を設定した。

これらの新しく設定した測定法を用いて18種類の purine 塩基, 9種類の pyrimidine 塩基について *M. glutamicus* の pyrophosphorylase 活性を検討したところ, ウラシル, オロチン酸, 5-フルオロオロチン酸, グアニン, 6-チオグアニン, ヒポキサンチン, およびキサンチンに対する活性が認められた。このうちとくにウラシル, オロチン酸, グアニン, ヒポキサンチンからは顕著にヌクレオチドが生成された。

この結果から *M. glutamicus* の菌体中には IMP-GMP, OMP, UMP, XMP pyrophosphorylase の少なくとも四種類の酵素が存在すると結論される。

論文審査の結果の要旨

ヌクレオチドは核酸の構成単位あるいは生化学反応の要素として重要な物質であるが, 近年, 医薬, 食品などへの用途が開発され, その工業的生産が重要となってきた。したがってその製造法は種々の立場から研究されている。従来ヌクレオチドの製造法としては核酸分解法, 有機合成法, 醗酵法およびこれらの組み合わせ法が研究されてきた。

著者は醗酵法による独自のヌクレオチド製造法を開発する目的でその基礎的知見となる微生物体内での生合成経路について追究し, 多くの新知見をえている。

従来知られている生合成経路のうち核酸塩基と PRPP とからヌクレオチドが生成される salvage 合成経路が最も有利であると判断し, この生合成経路の主役となる pyrophosphorylase の存在・分布を微生物について検索した。そのため著者は本酵素活性の測定法を設定している。さらに *M. glutamicus* の無細胞抽出液から部分精製酵素液をえてその酵素化学的性質を明らかにするとともに, PRPP の微量定量法を設定し, また各種の nucleotide pyrophosphorylase 測定法をも設定した。

この方法によって *M. glutamicus* を用いて27種類の核酸塩基からのヌクレオチドの生合成を検討した結果, ウラシル, オロチン酸, グアニン, ヒポキサンチンから顕著にヌクレオチドが生成されることを明らかにしている。

このように本論文はヌクレオチド製造の基礎資料として高い価値をもつ研究で, 生化学および生化学工業の分野に貢献するところが多い。

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。