

氏 名	安 田 正 昭 やす だ まさ あき
学 位 の 種 類	農 学 博 士
学 位 記 番 号	論 農 博 第 850 号
学位授与の日付	昭 和 55 年 3 月 24 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 L-Ornithine : α -Ketoglutarate δ -Amino-transferase of <i>Bacillus sphaericus</i> (<i>Bacillus sphaericus</i> の L-オルニチン : α -ケトグルタル酸 δ -アミノトランスフェラーゼに関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 山 本 龍 男 教 授 森 田 雄 平 教 授 山 田 秀 明

論 文 内 容 の 要 旨

L-オルニチンは尿素サイクルの構成員として、またポリアミンの前駆体として動物の窒素代謝上重要な役割を担っている。L-オルニチン： α -ケトグルタル酸 δ -アミノトランスフェラーゼ (EC. 2.6.1.13) は L-オルニチンの δ 位のアミノ基を α -ケトグルタル酸に転移する酵素で、動物、植物、微生物など生物界に広く存在している。本酵素の研究は主として動物、とくにラットの肝臓を対象として行われているが、微生物酵素については不明な状態に残されている。

本研究は細菌における L-オルニチン： δ -アミノトランスフェラーゼの分布を調べ、最も高い活性を有する *Bacillus sphaericus* の無細胞抽出液から微生物の酵素としてはじめて本酵素を均一状態にまで精製、結晶化することに成功した。さらに本酵素の反応様式、物理化学的、酵素化学的諸性質を解明するとともに本酵素のスイサイドサブストレートによる阻害反応などを明らかにした。また本酵素を利用した L-オルニチンの微量定量法を確立した。

まず本酵素の細菌における分布を調べ、すべての供試細菌に多かれ少なかれ活性の存在を認めたが、最も高い活性を有する *Bacillus sphaericus* (IFO 3525) を実験に供した。本酵素活性は培地に L-オルニチンあるいは L-アルギニンを添加すると誘導的に増大したが、このアルギニンによる誘導効果は本菌の有するアルギナーゼによって L-アルギニンから生成した L-オルニチンによる誘導効果であることを実証している。

ついで本酵素を均一状態にまで精製し、針状の結晶標品を得た。また本酵素の反応様式を詳細に検討して本酵素がオルニチンの2個のアミノ基のうち、 δ 位のアミノ基の転位を触媒すること、すなわち本酵素は L-オルニチンと α -ケトグルタル酸との間のアミノ基転移反応を触媒し、グルタミン酸 γ -セミアルデヒドと L-グルタミン酸を生成することを証明した。

本酵素の物理化学的、酵素化学的諸性質を検討して、分子量は約80,000で同一分子量のサブユニット2個から構成されていること、またタンパク質1分子あたり直接反応に関与するピリドキサル 5'-リン酸1分子と、直接には関与しないビタミン B₆ 化合物1分子を有することを明らかにして、L-リジン： ϵ -ア

ミノトランスフェラーゼで知られているものとは異なった一種のセミアポ酵素の存在を明らかにして興味ある問題を提供している。

また γ -アミノ酪酸アミノトランスフェラーゼに対する スイサイドサブストレートとして知られているガバクリンにより不可逆的の障害を受けることを見出し、本酵素の触媒機構についても考察を加えている。

さらに応用面として本酵素を利用した L-オルニチンの微量定量法、L-リジンと L-オルニチンの分別定量法を確立した。

論文審査の結果の要旨

L-オルニチンは動物の窒素代謝上重要な役割を担っている。L-オルニチン： α -ケトグルタル酸 δ -アミノトランスフェラーゼ (EC 2. 6. 1. 13) は L-オルニチンの δ 位のアミノ基を α -ケトグルタル酸に転移する反応を触媒する酵素で、本酵素の研究は主として動物、とくにラットの肝臓を対象として行われているが、微生物の酵素については不明瞭の状態に残されている。

本論文は細菌における L-オルニチン： α -ケトグルタル酸 δ -アミノトランスフェラーゼの分布を調べ、最も高い活性を有する *Bacillus sphaericus* の無細胞抽出液から微生物酵素としてはじめて本酵素を均一状態にまで精製し、ついで結晶化することに成功した。

ついで本酵素の反応様式を詳細に検討して本酵素が L-オルニチンの 2 個のアミノ基のうち δ 位のアミノ基の転移を触媒することを明確にしている。

本酵素の物理化学的、酵素化学的諸性質を検討して、分子量は約 80,000 で同一分子量のサブユニット 2 個から構成されること、またタンパク質 1 分子あたり直接反応に関与するピリドキサル 5'-リン酸 1 分子と、直接には関与しないビタミン B₆ 化合物 1 分子を有することを明らかにして、L-リジン： ϵ -アミノトランスフェラーゼで知られているものとは異なった一種のセミアポ酵素の存在を明確にして興味ある問題を提供した。

また γ -アミノ酪酸アミノトランスフェラーゼに対する スイサイドサブストレートとして知られているガバクリンにより不可逆的の障害を受けることを見出し、本酵素の触媒機構について考察を加えている。

さらに応用面として本酵素を利用した L-オルニチンの微量定量法、L-オルニチンと L-リジンの分別定量法を確立した。

以上のように本論文は細菌の L-オルニチン： α -ケトグルタル酸 δ -アミノトランスフェラーゼの精製、結晶化とその物理化学的、酵素化学的諸性質の解明、反応機構の検討、さらに応用面をも開発したもので微生物化学、酵素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。