

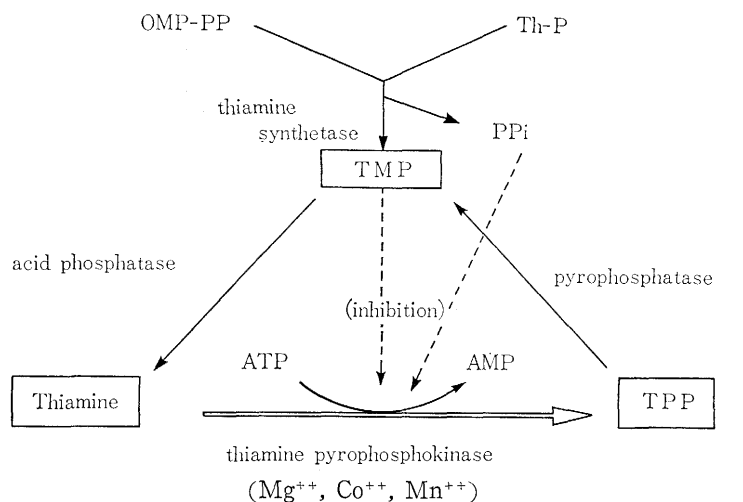
氏 名 瀧 井 幸 男
たき い ゆき お
 学位の種類 農 学 博 士
 学位記番号 農 博 第 221 号
 学位授与の日付 昭 和 51 年 1 月 23 日
 学位授与の要件 学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
 研究科・専攻 農 学 研 究 科 農 芸 化 学 専 攻
 学位論文題目 **STUDIES ON METABOLISM OF THIAMINE AND ITS
 PHOSPHATES IN PLANTS**

(植物におけるサイアミンおよびそのリン酸エステルの代謝に関する研究)

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

論 文 内 容 の 要 旨

ビタミン B₁(thiamine)が植物体において生合成されるとき、その生成物はモノリン酸エステル(TMP)であるが、これが活性型ビタミン B₁である thiamine pyrophosphate (TPP) として機能するためには TMP は、(1)ネズミ肝、酵母で示されたように phosphatase の作用によっていったん脱リン酸されたのち、直接 ATP よりピロリン酸転移を受けるか (thiamine pyrophosphokinase 反応)、(2)大腸菌で示されたように直接 ATP よりモノリン酸転移を受けるか (TMP kinase 反応)、(3)ピロリン酸転移によっていったん、トリリン酸 (TTP) となったのち脱リン酸されねばならない。(1)および(2)の反応系に関する研究は粗酵素から部分精製した酵素を用いて証明されたものであり、植物における thiamine のリン酸化機構



OMP-PP : 2-methyl-4-amino-5-hydroxymethylpyrimidine pyrophosphate

Th-P : 4-methyl-5, β-hydroxyethylthiazole monophosphate

についての報告はない。

著者は植物界における thiamine synthetase と kinase の分布および細胞内局在性を明らかにし、thiamine pyrophosphokinase を約8,000倍に純化し、その性質を究めた。その結果、Sephadex G-150 を用いたゲルろ過法によって標準タンパク質の溶出位置との比較から精製酵素の分子量は約30,000であり、SDS 電気泳動法によっても、ほぼ同値を示し、さらに等電点は4.5、活性化エネルギーは4,500cal/moleであることをはじめて明らかにした。本酵素反応には Mg^{++} 、 Co^{++} 、 Mn^{++} など2価カチオンが必須であった。さらに本酵素の反応はATPが先に結合し、TPPが先に遊離する Ordered Bi Bi 機構に従って行なわれることを明らかにした。

論文審査の結果の要旨

Thiamine が 2-methyl-4-amino-5-hydroxymethylprimidine (OMP) と 4-methyl-5, β -hydroxyethyl-thiazole (Th) とから生合成されることは緑葉について、1970年に実証されているが、その生成物は遊離型の thiamine ではなくモノリン酸エステル (TMP) であった。これが補酵素 thiamine pyrophosphate (TPP) として機能するためには TMP からどのような経路をへて生成されるか興味ある課題である。

本研究は、高度に精製した酵素を用いて植物における thiamine ピロリン酸エステルの生成機構を明らかにするとともに、その調節機構を検討したものである。

著者はまず、phosphatase, thiamine pyrophosphokinase および thiamine synthetase の活性測定法を確立し、植物培養細胞の thiamine 要求性を究めた。さらに種々の植物について検索し、セロリ、パセリ、ニンジン、ニラに比較的強い thiamine pyrophosphokinase および TMP kinase 活性を、大豆もやしには酵母に匹敵する強い synthetase 活性の存在を認めた。強い両酵素活性を示したパセリ緑葉より、トリス塩酸緩衝液 (pH 7.5) 抽出、硫酸分画 (30~45%)、DEAE-cellulose column chromatography, Sephadex G-150 ゲルろ過、hydroxylapatite column chromatography, 調製用ポリアクリルアミド電気泳動によって約8,000倍に製精した均一な酵素標品を得ている。さらに本酵素の諸性質、反応機構についても詳細に究明している。植物の培養細胞の thiamine 要求性はその前駆体である OMP と Th の混合物あるいは Th 単独の添加によって置き換えられる。OMP と Th からの thiamine 生合成経路により生成された TMP は直接リン酸化されるのではなく、存在する phosphatase により、一度脱リン酸を受けて遊離の thiamine となったのち、thiamine pyrophosphokinase (E. C. 2.7.6.2) の作用を受けて TPP に転換されることを、高度に精製した酵素標品を用いて実証した。

以上のように本研究の成果は栄養化学、酵素化学の分野に貢献するところが極めて大きい。

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。