

氏 名	李 良 子 リ リヤン ジヤ
学位の種類	農 学 博 士
学位記番号	農 博 第 274 号
学位授与の日付	昭 和 53 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 食 品 工 学 専 攻
学位論文題目	STUDIES ON GALACTOSE METABOLISM IN BIFIDOBACTERIUM BIFIDUM (<i>BIFIDOBACTERIUM BIFIDUM</i> におけるガラクトース代謝 に関する研究)
論文調査委員	(主査) 教 授 杉倉辰六郎 教 授 千葉英雄 教 授 木村 光

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は *Bifidobacterium bifidum* におけるガラクトースの代謝機構に関する知見を得る目的で、重要な代謝中間体である UDP-グルコース (UDP-Glc) および UDP-ガラクトース (UDP-Gal) の代謝に關与する糖ヌクレオチドピロホスホリラーゼならびに Leloir pathway 酵素 (ガラクトキナーゼ, ガラクトース 1-リン酸ウリジルトランスフェラーゼ, UDP-ガラクトース 4-エピメラーゼ) について検討した結果をとりまとめたものである。内容は以下のように要約される。

UDP-Glc および UDP-Gal ピロホスホリラーゼは単一にまで精製された。両酵素活性は精製過程で同じ挙動を示すこと、活性比・熱安定性などが同一であること、両基質が同一の活性部位を競うことなどから両活性は同一の酵素タンパクにより触媒されると結論される。本酵素はゲル濾過法により分子量が約 200,000 と算出され、SDS 電気泳動法により同一サブユニットからなる四量体であると考えられる。本酵素の特筆すべき性質は、第一に UDP-Glc pyrophosphorolysis の場合にみられる。すなわち、UDP-Glc に対する K_m 値や V_{max} 値はピロリン酸 (PPi) 濃度に著しく依存し、低濃度 PPi で UDP-Glc による基質阻害が観察される。しかし、この UDP-Glc による阻害は完全には進行せず、UDP-Glc が 4-5 mM 以上になると残存活性は一定となる。これらの現象は、酵素上に基質部位以外にも UDP-Glc 結合部位 (阻害部位) が存在し、そこに結合した UDP-Glc が PPi の親和性を低下させると仮定すれば説明できる。次に UDP-Glc と UDP-Gal に対する活性比は基質濃度に著しく依存し、低濃度では UDP-Glc に対する活性の方が大きい、濃度が高くなるに従い UDP-Gal に対する活性の方が大きくなる。両活性の比が逆転する基質濃度は PPi 濃度によって異なり、例えば PPi 10mM では約 3mM, PPi 50mM では約 8mM である。以上の知見のほかに、著者は基質類縁体や糖代謝中間体による阻害および活性化を指摘している。

さらに著者は *B. bifidum* のガラクトキナーゼ, ガラクトース 1-リン酸ウリジルトランスフェラーゼ, UDP-ガラクトース 4-エピメラーゼなどの Leloir pathway 酵素に関して詳細な解析を行なった。

すなわち、本菌の特徴として Leloir pathway 酵素が構成酵素としても存在することを見出し、続いてグルコース生育菌体から前記3種の酵素をすべて単一にまで精製して、それらの酵素化学的諸性質を明らかにしている。一般に Leloir pathway 酵素のうちウリジルトランスフェラーゼの活性が最も高いとされているが、本菌のトランスフェラーゼ活性がガラクトース生育菌においても非常に低いことは注目に値する。以上の研究結果から、著者は本菌のガラクトース代謝においては通常の Leloir pathway のほかに UDP-Gal pyrophosphorylase pathway も重要な生理的役割を果たし得ると結論している。

論文審査の結果の要旨

Bifidobacterium bifidum は母乳栄養児の腸管内に特異的に棲息する嫌気性菌で、その形態や栄養要求性に大きな特徴を有している。従来、本菌の乳児腸管内での生理的役割が重視されているにも拘らずその生化学的知見は少ない。

著者は本菌の特異的生育炭素源である乳糖、特にガラクトースの代謝に注目し、関連酵素の精製ならびに諸性質に関して詳細な研究を行なった。主な成果は次のとおりである。

著者の単離した糖ヌクレオチドピロホスホリラーゼは UDP-グルコース (UDP-Glc) と UDP-ガラクトース (UDP-Gal) に特異的に作用する。その分子量は約200,000であり、また同一サブユニットからなる四量体構造を有している。本酵素の注目すべき性質として両基質に対する活性の変動性があげられる。すなわち、UDP-Glc pyrophosphorolysis の場合、UDP-Glc に対する K_m や V_{max} 値はピロリン酸 (PPi) 濃度に著しく依存するばかりでなく、低濃度 PPi で UDP-Glc による基質阻害が認められる。しかし、UDP-Glc による阻害は完全には進行せず、UDP-Glc がある濃度以上になると残存活性は一定となる。これらの現象の機構として、著者は酵素上に基質部位以外に UDP-Glc の結合部位 (阻害部位) が存在し、そこに結合した UDP-Glc が PPi の親和性を低下させるためであると説明している。次に UDP-Glc と UDP-Gal に対する活性比は基質濃度に著しく依存し、基質低濃度では UDP-Glc に対する活性の方が大きい、濃度が高くなるに従い UDP-Gal に対する活性の方が大きくなる。以上の知見のほかに、著者はヌクレオチドや糖代謝中間体による阻害および活性化現象を見出している。

さらに著者は本菌の特徴として Leloir pathway の酵素が構成酵素として存在することを見出すとともに、ガラクトキナーゼ、ガラクトース1-リン酸ウリジルトランスフェラーゼ、UDP-Gal 4-エピメラーゼをすべて単一にまで精製して、それらの基本的諸性質を明らかにしている。著者は研究結果を総合して、本菌では通常の Leloir pathway のほかに pyrophosphorylase pathway が重要な役割を果たし得ることを指摘した。本研究は一般生体のガラクトース代謝、特に人の先天性代謝異常症である galactosemia の酵素機構とも関連して興味深い。

以上のように、本論文は *B. bifidum* の栄養生理の分野に新しい知見を加えたものであって、微生物生産学および糖生化学に寄与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。