

氏 名	大 島 松 美 おおしま まつ み
学位の種類	農 学 博 士
学位記番号	農 博 第 252 号
学位授与の日付	昭 和 52 年 1 月 24 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 ISOZYMES OF GLUTAMINASE FROM PSEUDOMONAS AERUGINOSA (<i>Pseudomonas aeruginosa</i> のグルタミナーゼのアイソザイムに関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 山 本 龍 男 教 授 秦 忠 夫 教 授 柄 倉 辰 六 郎

論 文 内 容 の 要 旨

グルタミナーゼ (グルタミンアミドヒドロラーゼ EC 3.5.1.2) はアミノ酸並びにアンモニアの代謝上重要な役割を果たしており、動植物、微生物に広く分布することが知られている。

本論文は *Pseudomonas aeruginosa* (IFO 3080) の無細胞抽出液中にグルタミナーゼのアイソザイムが存在することを見出し、各アイソザイムを均一蛋白質として単離し、物理化学的、酵素化学的性質並びに抗しゅよう性について検討を加えたものである。

すなわち、無細胞抽出液からグルタミナーゼを精製する過程において、DEAE-セルロースクロマトグラフィーで2種の別個の溶出部分にグルタミナーゼ活性を認め、低イオン強度で溶出する酵素をグルタミナーゼA、高イオン強度で溶出する酵素をグルタミナーゼBと命名した。両アイソザイムは均一状態に精製され、特にグルタミナーゼAは結晶状に得られた。

超遠心分析で得られたグルタミナーゼA、Bの分子量はそれぞれ約137,000と67,000である。グルタミナーゼAは4個の同一サブユニット (分子量約35,000)、Bは1個のポリペプチド鎖 (分子量約67,000) から構成されている。また両アイソザイムの解離・会合による相互転換は認められなかった。ついで酵素化学的性質としては、両アイソザイムともpH7.2~9.0附近において最大活性を示すが、グルタミナーゼBはAより熱に安定である。両アイソザイムは基質に対する光学特異性が低く、D-アミノ酸もL-アミノ酸と同じく基質となりうる。グルタミナーゼAはグルタミンのほかアスパラギンも基質とするが、グルタミナーゼBはアスパラギンには全く作用せず、種々の γ -グルタミル誘導体のみを基質とすることができ、両アイソザイムは、加水分解反応およびヒドロキサム酸生成反応を触媒するが、酵素反応の律速段階は両アイソザイムとも酵素のアシル化の段階である。抗しゅよう活性を調べたところ、グルタミナーゼAはマウスのエールリッヒ腹水がんに対して著しい抗しゅよう性を有するが、Bはほとんど抗しゅよう性を示さないなどの性質も明らかにされた。

論文審査の結果の要旨

アンモニア並びにアミノ酸代謝において中心的な役割を演じているグルタミナーゼは、近年、酵素化学的、生理学的立場から解明されつつあるとともにその抗しゅよう性が注目を浴びている。

著者は、*Pseudomonas aeruginosa* (IFO 3080) に2種のグルタミナーゼのアイソザイムが存在することを見出し、各アイソザイムを均一にまで精製し、それぞれグルタミナーゼAおよびBと命名し、特に前者は結晶化することに成功した。

この精製された両アイソザイムの物理化学的、酵素化学的諸性質を解明し比較研究するとともに、その抗しゅよう性についても詳細な検討を加えた。

すなわち、グルタミナーゼA、Bの分子量はそれぞれ137,000、67,000であり、アイソザイムは4個の同一ポリペプチド、Bは1個のポリペプチドから構成されている。両アイソザイムともに微アルカリ性領域において最も高い触媒活性を示す。グルタミナーゼAの基質は炭素骨格として β -アスパルチル基または γ -グルタミル基を有する酸アミドおよびヒドロキサム酸であるが、基質に対する光学特異性は低い。一方、グルタミナーゼBは、グルタミンをはじめテアニン、 γ -グルタミルエチルエステルなどの γ -グルタミル誘導体のみを基質とすることができ、光学特異性は同様に低いことなどを明らかにしている。またマウスのエールリッヒ腹水がんに対してグルタミナーゼAは *in vivo* で抗しゅよう性を有するが、Bはほとんど活性を示さないなどの結果を得ている。

以上のように本論文は *Pseudomonas aeruginosa* のグルタミナーゼに2種のアイソザイムを見出すとともにその物理化学的、酵素化学的性質を明らかにし、更にその抗しゅよう性についても比較検討を加えたユニークな内容を含み、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。