

|         |                                                                                                                    |
|---------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏 名     | 森 口 充 瞭<br>もり ぐち みつ あき                                                                                             |
| 学位の種類   | 農 学 博 士                                                                                                            |
| 学位記番号   | 農 博 第 155 号                                                                                                        |
| 学位授与の日付 | 昭 和 47 年 7 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  | <b>Studies on Kynureninase of <i>Pseudomonas marginalis</i></b><br>( <i>Pseudomonas marginalis</i> のキヌレニナーゼに関する研究) |

(主 査)  
論文調査委員 教 授 山 本 龍 男 教 授 緒 方 浩 一 教 授 千 葉 英 雄

### 論 文 内 容 の 要 旨

本論文はビタミン B<sub>6</sub> 酵素の立場から *Pseudomonas marginalis* の生産するキヌレニナーゼについて詳細な研究を行なった結果をとりまとめたものである。

著者は細菌、酵母それぞれ数十種を用いてキヌレニナーゼ活性を検索した結果、*Pseudomonas marginalis* の菌体中に L-トリプトファンにより著しく誘導生成されるキヌレニナーゼの存在を見出した。

ついで本酵素を無細胞抽出液から約 130 倍に精製し、黄色薄板状の結晶酵素を得た。

本結晶酵素についてその物理化学的ならびに酵素化学的性質を明らかにした。レーリーの干渉光学系を用いた沈降平衡法によると分子量は 100,000 であり、また補酵素として酵素 1 分子あたり 1 分子のピリドキサルリン酸 (PLP) を含むことを実証した。

さらに、本酵素は反応生成物である L-アラニンの存在によって活性が時間とともに低下する現象を見出した。この機構を詳細に研究したところ、単なる反応生成物阻害ではなく L-アラニンによる結合型補酵素の転換に起因する不活性化反応であることを明らかにした。すなわち、L-アラニンの添加によりホロ酵素に結合した PLP の吸収極大が消失し、ピリドキサミンリン酸 (PMP) に相当する吸収極大 (325 mμ) があらわれる。この PMP 型酵素は透析によってアポ酵素に変わり PMP とピルビン酸の両者を添加すると PLP 添加と同じように酵素活性が回復する。これは L-アラニンと補酵素間のアミノ基転移反応を意味している。同様な不活性化現象は L-オルニチンによっても認められた。L-オルニチンによる不活性化も、同じく本酵素自身の行なうアミノ基転移反応により結合 PLP が不活性型の PMP に転換することによるものである。

以上の事実より、本酵素はキヌレニンの加水分解反応を触媒するとともに、酵素に結合した PLP と L-アラニンまたは L-オルニチン間のアミノ基転移反応、ならびにピルビン酸の関与する逆反応をも触媒することが明らかになった。補酵素の関与するこのアミノ基転移反応によりキヌレニナーゼ活性は制御され一種の活性調節機構としてアミノ酸代謝に重要な機能をはたしていると推論される。

## 論文審査の結果の要旨

キヌレニナーゼ (EC 3. 7. 1. 3) はトリプトファン代謝上、極めて重要なキヌレニンの加水分解を触媒してアラニンとアントラニール酸を生成する酵素である。それにもかかわらず本酵素は *Pseudomonas fluorescens*, *Neurospora crassa* およびネズミの肝臓より部分的に精製され、若干の酵素化学的性質が報告されているにすぎない。

著者は種々の微生物について検索を行ない、本酵素活性の最も高い *Pseudomonas marginalis* の菌体を酵素源としてキヌレニナーゼを精製し黄色薄板状の結晶として単離することに成功した。

この結晶酵素の諸性質を物理化学的ならびに酵素化学的立場から究明した。本酵素の分子量は約100,000であり、酵素1分子中に1分子のピリドキサルリン酸 (PLP) が酵素タンパク質のリジン残基の  $\epsilon$ -アミノ基との間の Schiff 塩基を介して結合していることが明らかとなった。さらに L-アラニンおよび L-オルニチンによって本酵素が不活性化される新しい現象を見いだした。この不活性化機構を詳細に研究し、その結果本酵素は L-キヌレニンの加水分解とともに L-アラニンあるいは L-オルニチンと PLP の間のアミノ基転移反応をも触媒し、PLP はピリドキサミンリン酸 (PMP) に変換されて、キヌレニナーゼ活性が消失するユニークな機構を明らかにした。このことはアポ酵素に PMP とピルビン酸を添加すると PLP と同じようにキヌレニナーゼ活性が発現することによっても確かめられた。本酵素のトランスアミナーゼ反応は結合補酵素の相互転換を行なうことによってキヌレニナーゼ活性に影響を与え、一種の活性調節機構として生理的意義を有するものと考えられる。

以上のように本論文は、はじめて結晶キヌレニナーゼを調製し、その諸性質、なかんずく補酵素レベルのトランスアミナーゼ反応による酵素活性の制御機構を解明したものであり、酵素化学、微生物化学に貢献するところがきわめて大きい。

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。