

[24]

氏名(本籍)	井原誠 (和歌山県)
学位の種類	理学博士
位記番号	博甲第222号
学位授与年月日	昭和59年3月24日
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当
審査研究科	生物科学研究科 生物物理化学専攻
学位論文題目	Studies on biosynthetic pathway of the spore germination inhibitor discadenine in the cellular slime mold <i>Dictyostelium discoideum</i>. (細胞性粘菌における孢子発芽阻害因子の生合成系に関する研究)
主査	筑波大学教授 理学博士 柳澤嘉一郎
副査	筑波大学教授 理学博士 鈴木 恕
副査	筑波大学教授 理学博士 渡辺良雄
副査	筑波大学助教授 農学博士 田仲可昌

論 文 の 要 旨

細胞性粘菌の孢子発芽は粘菌自身が生産する阻害物質ディスクアデニンにより阻害される。その構造は、生合成経路はすでに明らかにされており、この生合成の中間体として生成される i^0 Adeは高等植物におけるサイトカイニンとすて知られている。

本研究ではディスクアデニン生合成系の酵素活性、生成物の含量と粘菌の発生との関係、およびその生合成に働く二つの酵素の精製を行い、それらの酵素化学的諸性質を調べた。その結果、次のような新しい知見がえられた。

ディスクアデニンは5'APMから i^0 Adeをへて合成される。この最初のプロセスに働く酵素AITase (Δ^2 -isopentenylpyrophosphate : 5'AMP isopentenyltransferase)は粘菌の発生後期に初めて活性をしめすが、最後のプロセス(i^0 Ade→ディスクアデニン)に働く酵素ディスクアデニン合成酵素は発生の中期からすでに活性があらわれ、後期に最大となる。すなわち、これら酵素の発生に伴う発現の時期はディスクアデニンの生合成の経路とその順序が逆であることが明らかにされた。生成物のディスクアデニンの量はAITaseの活性の上昇に伴って増加し i^0 Ade量は数時間遅れて増加した。この現象はAITaseで合成された i^0 Adeが先に作られたディスクアデニン合成酵素により直ちにディスクアデニンに変換され、おそらく i^0 Adeと共にディスクアデニンの基質となるSAM (S-Adenosyl methionine)の減少によってディスクアデニンが合成されなくなり、 i^0 Adeが蓄積されるものと考えられる。

AlTaseは種々のカラムクロマトグラフィーを用いて6800倍に精製したが、単一のバンドとしては検出できず、また最終精製標品は非常に不安定であった。AlTaseは分子量40,000の単一成分の蛋白質であり、2価の金属イオンにより活性、至適pH、至適温度などの性質が大きく変化した。基質として最も効果的であったのは5'AMPとdAMPでADPも基質となりえた。最も至適と考えられる反応条件(pH 7.5, 1mMZn²⁺, 25°C)での k_m 値は 1.0×10^{-7} M (5'AMP), 2.2×10^{-6} M (IPP: 3-methyl-2-butenyl pyrophosphate)であった。近年、高等植物のサイトカイニン合成酵素が部分精製されており、その性質は粘菌の酵素に近いそとが知られている。このように系統分類学上非常にかけ離れた粘菌と高等植物に同様の反応を触媒する酵素が存在することは極めて興味深い。

ディスカデニン合成酵素は分子量82,000、等電点p 15.8の単一成分の蛋白質で、活性発現に金属イオンを要求せず、至適pH 7.5、至適温度35°Cで、45°Cでも35°Cの60%の活性をしめす比較的溫度安定性の高い酵素であった。至適条件でのSAMに対する k_m 値は 2.3×10^{-6} Mであった。

本研究によりAlTaseおよびDSase(ディスカデニン合成酵素)は粘菌の発生に伴って生産制御を受けている酵素であることが明らかにされた。また、これらの酵素は今回初めて高度に精製分離された。

審 査 の 要 旨

生物体はいろいろな物質を極めて合目的に生産する。したがって発生過程で、基質から幾つかの反応過程をへて最終産物を作る場合、その過程に働く酵素は反応ステップの順序に従って転写翻訳されるものと従来考えられていた。

本研究は細胞性粘菌を用いてその発生最終過程に出現する胞子発芽阻害物質ディスカデニンの合成経路を調べ、そこに働く酵素群が発生過程において合成経路の反応ステップとは逆の順序で転写翻訳されていることを発見した。また、これらの酵素を分離精製し、その酵素化学的性質を調べた。さらにディスカデニン合成過程で中間体として生ずる物質に、高等植物におけるホルモンとしてよく知られているサイトカイニンがあり、これを合成するサイトカイニン合成酵素が粘菌細胞にも存在することを明らかにした。この発見は系統分類学研究の面からも極めて興味深く、これらの新事実発見の業績は高く評価される。

よって、著者は理学博士の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。