

【18】

氏名（本籍） 倉 沢 新 一（長野県）

学位の種類 農 学 博 士

学位記番号 博 甲 第 48 号

学位授与年月日 昭和 55 年 2 月 29 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 農学研究科 応用生物化学専攻

学位論文題目 水稻アルドラーゼに関する研究

主 査 筑波大学教授 農学博士 伊 藤 達 郎

副 査 筑波大学教授 農学博士 花 田 毅 一

副 査 筑波大学教授 農学博士 村 上 和 雄

副 査 筑波大学教授 農学博士 安 井 恒 雄

論 文 の 要 旨

本論文はわが国をはじめコメを主食とする国民にとって最も重要な農作物である水稻の解糖系酵素の一つFructose-1, 6-bisphosphate aldolase [E. C. 4・1・2・13]（以下アルドラーゼと略す）に関する研究である。その内容はつぎの4編から成っている。

第1編「水稻種子発芽時におけるAldolaseの挙動」に関する研究においては、発芽前後におけるアルドラーゼ活性の変化を検討している。アルドラーゼ活性は発芽初期に一時的に減少するものの、再び増加して発芽後3日目で最高値に達し、その後次第に減少することを明らかにした。またポリアクリルアミドディスク電気泳動およびその活性染色により、アルドラーゼの多様性を調べた結果、発芽前の胚・ぬか層部と胚乳部、発芽後の根部と葉部とではそれぞれ、活性染色バンドの本数ならびに相対移動度が異なり、したがって水稻の発芽には多様なアルドラーゼが関与していることを推論している。また、発芽時の糖代謝に関与する α -アミラーゼの生成は植物ホルモンの一種であるジベレリンによって促進されることが知られているが、アルドラーゼはジベレリンの影響を受けないことを明らかにしている。

第2編「水稻種子胚・ぬか層よりの酵素の精製」においては、アルドラーゼ活性が高く、かつ多量の処理が容易な胚・ぬか層を用いて本酵素の精製と結晶化を行なっている。-20°Cで保存した水稻種子胚・ぬか層をトリス塩酸緩衝液（pH 7.4）で抽出し、これを硫酸飽和度 45~55%で分画した。この画分をさらにDEAE—セルロースカラム、セファデックスG—200によるゲル濾過、ホスホ

セルロースカラム処理後硫酸 65%飽和のもとでアルドラーゼの針状結晶を得た。このものはポリアクリルアミドディスク電気泳動法で単一バンドを示し、超遠心分析で平衡遠心法によるFringeの変位量の対数と回転半径の二乗とが直線性を示すことから、単一の蛋白質であることを確認している。

第3編「結晶酵素の酵素化学的性質」においては、本酵素の性質を検討しており、ミカエリス定数、最適pH、安定pH域、熱安定性等を求め、また等電点pH 7.9、分子量約 160,000、偏比重 0.74 cc/g であることを明らかにした。

第4編「Aldolaseの反応機構」においては、ここに得られた水稻アルドラーゼの活性中心を、他起源のアルドラーゼのそれと比較しながら検討しており、その結果、水稻アルドラーゼもリジンが活性中心であることを示唆している。これと同時に他の植物起源およびウサギ骨格筋のアルドラーゼで活性に関与するC末端アミノ酸(チロシン)は水稻アルドラーゼでは関与しないことを明らかにし、水稻アルドラーゼとしての特徴も認められることを示している。

審 査 の 要 旨

植物界におけるアルドラーゼは種子の発芽過程に関与しており、また光合成における CO_2 固定過程にも関与するなど植物生理上重要な酵素の一つであり、従来からハウレンソウその他で多くの研究がなされてきた。しかしながら、動物アルドラーゼにくらべて精製が困難であり、これまで結晶化された例はない。本論文は植物では初めて結晶化を行っており、また結晶酵素の性質を解明しているなど、植物アルドラーゼの研究に画期的な進歩をもたらしたものと見える。

また、わが国をはじめコメを主食とする国民にとって重要な作物である水稻を研究対象としていることも意義深いものと考えられる。

よって、著者は農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。