


専攻	材料システム工学	学籍番号	853518	指導教官氏名	鈴木慈郎
申請者氏名	下古谷博司				伊藤健兒
					竹市力

論 文 要 旨

論文題目	ブタ大脳中のピリミジンヌクレオシド1リン酸キナーゼ
------	---------------------------

(要旨 1,200字以内)

筆者は、ブタ大脳中にシトシンヌクレオチド間の濃度平衡維持反応を触媒する酵素活性〔(1)式〕を見いだした。



(1)式の反応を触媒する新しいタイプの酵素タンパクが存在するものと仮定しその酵素タンパクの分離精製を行った。その結果、SDS-PAGE上でシングルバンドのタンパク質にまで精製することに成功し、(1)式の反応を触媒する酵素がピリミジンヌクレオシド1リン酸キナーゼ(PMPK)であることを突き止めた。

PMPKは、広く分布する酵素でありピリミジンヌクレオシド1リン酸をリン酸化する。



(1)式は、(2)式においてATPをCTPに置換した時の逆反応に相当する。筆者の発見は、ブタ大脳中のPMPKはリン酸供与体としてATP以外にCTPをも利用できることを物語っている。ヒト赤血球やパン酵母由来のPMPKでは、ATPに対して高い特異性を有することが報告されており、CTPがリン酸供与体となり得るPMPKはラット肝由来のものが唯一報告されているにすぎない。筆者の精製標品を用いて基質特異性を検討したところ、(2)式においてATPのかわりに種々

のヌクレオシド3リン酸がリン酸供与体になり得ることが示された。また、pHの酵素活性への影響を調べた結果、ATPは幅広いpH範囲でリン酸供与体として働くが、CTPはある限られたpH範囲でのみ働くことが示された。同様にATPに対するKm値はpH7及び8においてほとんど変わらなかったが、CTPに対するKm値には明らかに差が生じ、pHの違いによりリン酸供与体に対する親和性が異なる現象が観察された。さらに、SH基還元剤(DTT)を用いたPMPKの再活性化の実験から、リン酸供与体の違いによりPMPKの再活性化に関与するS-S結合が明らかに異なることが示唆された。

ニワトリ赤血球から部分精製したPMPKを用いて、pHが酵素活性に及ぼす影響について調べた結果、ブタ大脳由来のPMPKと同様な挙動を示した。

筆者は精製酵素標品を用いて、高等動物で初めてN末端近くの26個のアミノ酸配列を明らかにし、先の基質特異性の測定条件による変化と関連づけて考察した。

以上の実験を行うに先だって筆者は、ヘキソキナーゼとグルコース6リン酸脱水素酵素の連鎖反応系を用いた簡便なヌクレオシド3リン酸の定量法も新しく開発している。

5

10

15

20

26