

氏名	井 上 宏 之
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	農 学
学位授与番号	博甲第1622号
学位授与の日付	平成9年3月25日
学位授与の要件	自然科学研究科生物資源科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文題目	Structure and Function of Enzymes Involved in L-Methionine Catabolism, L-Methionine γ -Lyase and α -Ketobutyrate Dehydrogenase E1, of <u>Pseudomonas putida</u> <u>Pseudomonas putida</u> のL-メチオニン分解系酵素L-メチ オニン γ -リアーゼ及び α -ケト酪酸デヒドロゲナーゼ E1の構造と機能
論文審査委員	教授 田中 英彦 教授 河津 一儀 教授 杉尾 剛 教授 白石 友紀 教授 土屋 友房

学位論文内容の要旨

Pseudomonas putida の L-メチオニン γ -リアーゼ遺伝子を大腸菌にクローニングした。本酵素の推定アミノ酸配列は、他の γ -family pyridoxal-P 酵素と相同性を示した。本酵素の Tyr114 及び Cys116 の役割を検討し、Cys116は反応機構に直接関与しないことを結論づけた。一方、Tyr114は基質の γ -脱離基の脱離を促進するための酸触媒として反応機構に関与することを提案する。

P. putida の mde オペロンを大腸菌にクローニングした。本オペロンは、L-メチオニン γ -リアーゼ (MdeA) 及び α -ケト酪酸デヒドロゲナーゼ E1 (MdeB) からなり、mdeA の上流には、本オペロンの発現に必須な正の調節タンパク質 (MdeR) がコードされていた。MdeB はグラム陰性菌のピルビン酸デヒドロゲナーゼ E1 と相同性を示した。MdeB は α -ケト酪酸に高い基質特異性を示す新規の α -ケト酪酸デヒドロゲナーゼE1であり、P. putida においては L-メチオニン誘導性の α -ケト酪酸デヒドロゲナーゼ複合体として α -ケト酪酸からプロピオニル-CoA への代謝に重要な役割を果たすことを提案する。

論文審査結果の要旨

本論文は、多彩な反応を触媒するピリドキサルリン酸依存性酵素であるL-メチオニンγ-リアーゼのα、γ-脱離反応に関わる残基を明らかにすること、並びに本酵素の関与する *Pseudomonas putida* のL-メチオニン分解機構の分子生物学的、酵素化学的性質を明らかにする目的で行われたものである。

まず最初に *P. putida* のL-メチオニンγ-リアーゼ遺伝子を大腸菌にクローニングした。本酵素の推定アミノ酸配列は他のγ族ピリドキサルリン酸酵素と高い相同性を示した。本酵素の Tyr114 及び Cys116 の役割を検討し、Cys116 は反応機構に直接関与しないことを明らかにした。また、Tyr114 は基質のγ-脱離基の脱離を促進するための酸触媒として機能することを見出した。

次に、*P. putida* の mde オペロンを見出し、大腸菌にクローニングした。本オペロンはL-メチオニンγ-リアーゼ (MdeA) 遺伝子及びα-ケト酪酸脱水素酵素 E 1 (MdeB) 遺伝子からなり、mdeA の上流には、本オペロンの発現に必須な正の調節タンパク質 (MdeR) がコードされていた。MdeB はグラム陰性菌のピルビン酸脱水素酵素 E1 と高い相同性を示し、且つα-ケト酪酸に高い基質特異性を示す新規のα-ケト酪酸脱水素酵素 E1 であった。本 MdeB は *P. putida* においてはL-メチオニンからL-メチオニンγ-リアーゼの触媒作用により生成するα-ケト酪酸をL-メチオニン誘導性のα-ケト酪酸脱水素酵素複合体として、プロピオニル-CoA への代謝に重要な役割を果たす可能性を示唆した。

これらの知見は、独創性に富み、酵素化学の上に有用な示唆を与えるものである。よって、本学位審査会は、本論文が博士（農学）の学位に値するものと判定した。