

Title	化学修飾によるトリプトファナーゼの活性部位の構造解明
Author(s)	柿園, 俊英
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	http://hdl.handle.net/11094/1076
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

【3】

氏名・(本籍)	柿	蘭	俊	英
学位の種類	工	学	博	士
学位記番号	第	7709	号	
学位授与の日付	昭和62年3月26日			
学位授与の要件	工学研究科醸酵工学専攻 学位規則第5条第1項該当			
学位論文題目	化学修飾によるトリプトファナーゼの活性部位の構造解明			
論文審査委員	(主査) 教授 田口 久治			
	教授 岡田 弘輔	教授 山田 靖宙	教授 高野 光男	
	教授 大嶋 泰治	教授 合葉 修一		

論文内容の要旨

本論文は、多機能ビタミンB₆酵素の一つであるトリプトファナーゼを用いて、種々の化学修飾を行い、その活性部位にシステイン残基およびカルボキシル基を同定し、チロシン残基を含めた3つのアミノ酸残基の触媒作用における役割について検討した結果をまとめたもので、5章より構成されている。

第1章では、ビタミンB₆酵素の多様な反応特異性が酵素の活性部位の構造によって決定されることから、トリプトファナーゼの活性部位に関する従来の研究の概要と、本研究の目的について述べている。

第2章では、トリプトファナーゼのシステイン残基に対して、ニトロチオシアノ安息香酸を用いて化学修飾を行い、酵素の活性部位にモノマーあたり、1-2個のシステイン残基が存在し、その残基が不活性型から活性型への変換に携わることを明らかにしている。

第3章では、チロシン残基の補酵素への結合様式について検討するため、補酵素アナログを用いてテトラニトロメタン修飾に対する結果を調べ、その結果このチロシン残基が、補酵素のピリジン環窒素と水素結合を通じて相互作用することを明らかにし、さらにその相互作用が α -プロトン脱離を誘起することを示している。

第4章では、酵素のカルボキシル基に対して、水溶性カルボジイミドを用いて化学修飾を行い、酵素のモノマーあたり1個のカルボキシル基が存在することを明らかにしている。さらに修飾酵素が基質のアルドイミン移転を行えないこと、および α -アミノ基を有する基質によって修飾失活から酵素が保護されることより、修飾をうけるカルボキシル基が、気質の α -アミノ基の脱プロトン化を促進し、アルドイミン移転に貢献することを示唆している。

第5章では、本研究で得られた主要な結果を述べている。

論文の審査結果の要旨

本論文は、大腸菌由来の多機能ビタミンB₆の酵素トリプトファンナーゼの化学修飾により、本酵素の活性発現に必須であるアミノ酸残基の同定と各アミノ酸残基の機能に関する研究結果をまとめたもので、主な成果を要約すると次の通りである。

- (1) システイン残基が活性発現に必須であることを明確に立証し、あわせて、不活性型と活性型2種のコンフォーマー間の相互変換を司るという機能を明らかにしている。
- (2) 活性域に存在するチロシン残基が、補酵素ピリドキサル5'-リン酸を水素結合で保持し、同時に基質の α -プロトン引き抜きを促進する機能を有していることを明らかにしている。
- (3) 本酵素の活性域に、活性発現に必須であるカルボキシル基が存在することを立証し、基質の α -アミノ基との結合部位として機能することを明確にしている。

以上のように、本論文はビタミンB₆酵素の多機能性を理解するうえで特に重要な活性発現に関与するアミノ酸残基とその機能を明らかにしたもので、生化学と酵素工学の発展に関与するところが大きい。よって本論文は博士論として価値あるものと認める。