



|              |                                                                                                                                                 |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | コムギ胚のヘム蛋白質　Ⅰ　コムギのヘマチン化合物の結晶化と性質                                                                                                                 |
| Author(s)    | 田川, 邦夫                                                                                                                                          |
| Citation     | 大阪大学, 1959, 博士論文                                                                                                                                |
| Version Type |                                                                                                                                                 |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/28181">https://hdl.handle.net/11094/28181</a>                                                             |
| rights       |                                                                                                                                                 |
| Note         | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。 |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

【 9 】

|             |                                                                             |
|-------------|-----------------------------------------------------------------------------|
| 氏 名・(本籍)    | 田 川 邦 夫<br>た がわ くに お                                                        |
| 学 位 の 種 類   | 理 学 博 士                                                                     |
| 学 位 記 番 号   | 第 1 3 号                                                                     |
| 学位授与の日付     | 昭 和 34 年 1 月 29 日                                                           |
| 学位授与の要件     | 理 学 研 究 科 生 理 学 専 攻<br>学位規則第5条第1項該当                                         |
| 学 位 論 文 題 目 | コ ム ギ 胚 の ヘ ム 蛋 白 質<br>I コ ム ギ の ヘ マ チ ン 化 合 物 の 結 晶 化 と 性 質<br>(主 査) (副 査) |
| 論 文 審 査 委 員 | 教 授 奥 貫 一 男 教 授 神 谷 宣 郎 教 授 本 城 市 次 郎                                       |

論 文 内 容 の 要 旨

高等植物の呼吸の研究のため、コムギ胚芽を材料にしてそのヘマチン化合物の単離精製を行った。

コムギ胚芽は動物組織と同様にチトクロムの a,b,c 成分の他に比較的多量の Peroxidase を含んでいる。私達は既にチトクロム c の他に Peroxidase を精製して還元  $\alpha$ -band が  $556m\mu$  及び  $566m\mu$  にある 2 種の Peroxidase の結晶標品を得た。しかし Peroxidase 566 の方は極めて僅かしか得られなかった。現在の方法ではその原因と思われる酢酸エチルおよび酢酸処理を除いた結果、操作は困難だが Peroxidase 566 のみの標品を得ることに成功した。

すなわちコムギ胚芽を磷酸緩衝液で抽出し硫酸分別後、I RC-50 の吸着およびクロマトグラフにより結晶標品が得られた。この標品を酢酸エチルおよび酢酸で処理して Peroxidase 556 を得ることに成功し、Peroxidase 556 が Peroxidase 566 の変化によって生じたものであることを証明した。

この Peroxidase 566 は従来の Peroxidase と異なるスペクトルを示すが、過酸化水素と非常に安定な化合物を作るのでこれは真の Peroxidase と思われる。

Peroxidase 566 は Theorell によって得られた Peroxidase I と吸収スペクトルの上では同一物と考えられる。しかし Peroxidase I はその後誰も得ていない。Keilin はそれを Peroxidase 556 に類似する Peroxidase II の変性物だと主張したが、以上の事実は全く逆の事を示している。

論 文 の 審 査 結 果 の 要 旨

田川君の論文「コムギ胚のヘム蛋白質」は種子発芽時の酵素化学的研究の一部であるが、2 種のヘム蛋白質を結晶として単離し、その性質を明らかにしたもので酵素化学に寄与する所が大きいと信じられるものである。

第一篇はコムギ胚のペルオキシダーゼの結晶化と性質に関する研究で、未知のヘム蛋白質がペルオキシ

ダーゼに属することを明らかにしたものである。コムギ胚のチトクロム c を抽出結晶化する研究に従事中チトクロム b 型のヘモクロモゲン吸収帯をあらわすものを得たが、それはペルオキシダーゼ活性が強く、一酸化炭素と結合物をつくる点でチトクロムに属するものではない。しかしながら、吸光曲線は典型的ペルオキシダーゼのそれとことなるのみならず、安定性も小さいためペルオキシダーゼと判定しかねていた。いわば、チトクロムとペルオキシダーゼの両者共通の新しい先駆物質を単離結晶化したのである、チトクロム c 抽出精製過程から得たばあいには、 $\alpha$ - 吸収帯が  $556m\mu$  (以下  $P_{556}$ ) にあるものと  $566m\mu$  ( $P_{566}$ ) にあるものが、それぞれ分別され結晶として単離されたが、抽出法の改良によって、天然には  $P_{566}$  が存在し、抽出精製過程で変化し  $P_{556}$  になることが結論されるに至った。

コムギ胚を 5 倍容量の燐酸緩衝液 (0.1M, pH6.5) を用いて室温で抽出、抽出液に硫酸を加えて 72% 飽和で塩析物を集め、それを水にとかし再び硫酸分別塩析すると、チトクロム c は硫酸 60% 飽和ろ液に、ペルオキシダーゼは塩析物中に分別される。塩析物を水にとかして透析生成する褐色沈澱を除去、透析を続行後燐酸緩衝液 (0.02N, pH6.5) に平衡させ Amberlite CG-50 カチオン交換樹脂カラムにかけてペルオキシダーゼを吸着洗浄後、ペルオキシダーゼを吸着した樹脂を中和後、燐酸緩衝液 (0.25N, pH7.0) で溶出、溶出液を透析して XE-64 カチオン交換樹脂に吸着させる。それを濃度のことなる燐酸緩衝液 (0.15N, pH7.5) と (0.25N, pH7.5) で 2 区分に溶離、それぞれの溶離液を再クロマトして主な溶離区分を集めて結晶化する。そのさい、溶離液の硫酸 40~60% 飽和で塩析される部分を少量の水にとかし、それに飽和硫酸溶液を徐々に加え、僅かに濁るところで密栓して数日間放置するとペルオキシダーゼ結晶が析出する。この方法では  $P_{566}$  の結晶のみがコムギ胚 2 kg から約 40mg の収量で得られる。これに反し、コムギ胚を酢酸エチルで処理後抽出液を pH4.5 で酸性処理をすると精製過程は容易になるが、 $P_{566}$  は著しく減少し、 $P_{556}$  の結晶が大部分を占めることになる。 $P_{556}$  は吸光曲線からもペルオキシダーゼに属させることができるが  $P_{566}$  は前述のようにチトクロムの吸収曲線をあらわすものである。しかしながら  $H_2O_2$  と比較的安定な結合物をつくるのでペルオキシダーゼ活性をもつこととあわせ考え、この酵素の先駆物質であろうと推定している。また  $P_{556}$  と  $P_{566}$  のヘム部分はいずれもプロトヘムであり、その吸光係数と蛋白質部分の吸光係数の比 ( $\frac{E_{411}}{E_{278}}$ ) はそれぞれ前者は 4.5、後者は 1.3 であるから、蛋白質部分に著しい変化がおきたと推論される。

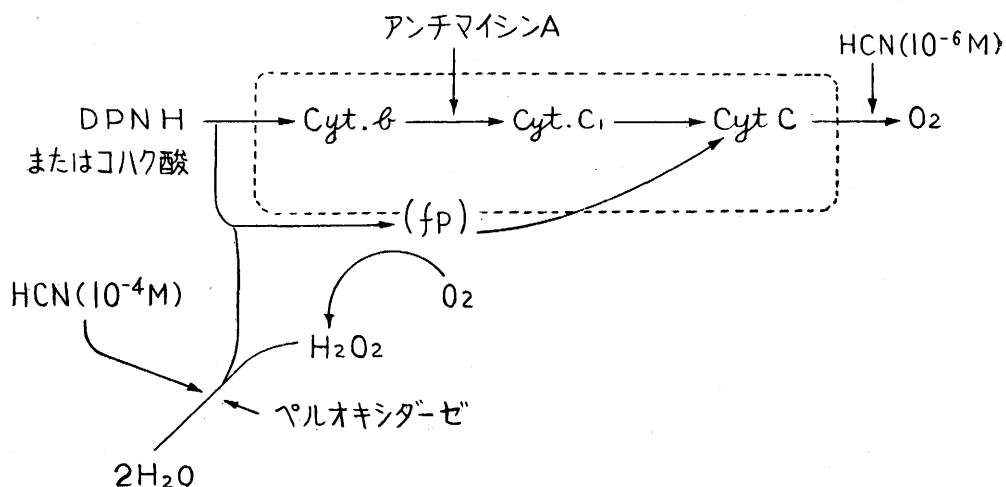
第二篇ではコムギ胚を水に浸し、やや高張のショ糖、燐酸緩衝液中ですりつぶして分別遠心分離して得た細胞内顆粒 (ミトコンドリアとみなされるもの) の還元助酵素およびコハク酸酸化機構を研究し、それらの基質によるチトクロム c 還元反応が僅かながら  $P_{566}$  添加によって阻害される事実を確認し、青酸やアンチマイシン A をもちいた阻害実験結果とあわせ考え、つぎの反応過程模式図を提唱した。

---

硫酸とは硫酸アンモニウムの略

燐酸とは燐酸アンモニウムの略

すなわち



で示される。ここに点線で囲んだ部分は顆粒内にありDPNHは還元助酵素をあらわす。(fp)は自働酸化能をもつ黄色酵素をあらわすもので、未確認のものであるが、当然存在すると考えられるものであるから模式図になら考慮しても差支えないであろう。

要するに田川君の主論文に記された研究結果は1, 2の未完成な点をふくむものであるが、新しいペルオキシダーゼをはじめて結晶として単離し、それを持ちいてその生理的意義を研究した独創性にとむもので、参考論文の結果を参照すれば理学博士の学位を得るに十分な資格を有するものと認められる。