

Title	小麦胚のヘム蛋白質の研究
Author(s)	新, 勝光
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/28370
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【 14 】

氏名・(本籍)	新 しん	勝 まさ	光 てる
学位の種類	理	学	博 士
学位記番号	第	226	号
学位授与の日付	昭和36年9月15日		
学位授与の要件	理学研究科生理学専攻 学位規則第5条第1項該当		
学位論文題目	小麦胚のヘム蛋白質の研究		
	(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
		教授 吉川 秀男	

論文内容の要旨

その一 ペルオキシダーゼの精製とその性質について

小麦胚から二種のペルオキシダーゼがすでに萩原、著者その他によって、結晶化されている。この方法は、酢酸エチルや酸性処理によって不純物を除く操作があり、二種のペルオキシダーゼのうち、ペルオキシダーゼ556は比較的多量に得られたが、もう一種の、ペルオキシダーゼ566は、このような過激な条件下では不安定であるために、極く少量しか得られなかった。そこで、田川と著者はそのような過激な操作を含まない温和な方法を発展させたが、この方法では、ペルオキシダーゼ566は安定に得られるが、ペルオキシダーゼ556は得られなかった。

そこで著者は、上の方法に改良を加え、二種のペルオキシダーゼを同時に安定に結晶化する方法を考案した。

得られた二種のペルオキシダーゼのうち、ペルオキシダーゼ556は西洋ワサビペルオキシダーゼⅡと同じく典型的なペルオキシダーゼであることが分光学的に明らかになった。ペルオキシダーゼ566は、いままでに知られているいずれのペルオキシダーゼとも異って、チトクロム b に類似の吸収スペクトルをもつ新しい型のペルオキシダーゼであった。

以前、田川と著者は、小麦胚を分光学的に観察すると、ペルオキシダーゼ566は容易に観察出来るにもかかわらず、ペルオキシダーゼ556はほとんど発見出来ないこと、および当時の方法では、ペルオキシダーゼ556が得られないことなどから、自然状態では、ペルオキシダーゼ566だけが存在し、ペルオキシダーゼ556はペルオキシダーゼ566が精製の途中で或る種の変化をうけて出来たものではないかと考えた。しかしながら、今度の方法で、二種のペルオキシダーゼが、比較的安定に得られること、および分子量の測定の結果ペルオキシダーゼ556は45000であり、ペルオキシダーゼ566は32000であること、又この二種のペルオキシダーゼの性質には、かなり大きな差異が認められることなどから、ペルオキシダーゼ566から由来

するのではなく、小麦胚の中に二種も存在するのではないかと考えられるに至った。

その二 小麦ペルオキシダーゼのインドール酢酸酸化酵素活性について

植物に存在するインドール酢酸酸化酵素活性にはいつもペルオキシダーゼが相伴っていることが認められており、ペルオキシダーゼがその活性に重要な役割をもっていると考えられている。しかしペルオキシダーゼそのものがインドール酢酸酸化酵素活性をもつのかこの酸化酵素の一成分として働いているのか不明であった。

著者は著者によって考案された方法によって結晶化したペルオキシダーゼ556と、ペルオキシダーゼ566を用いて、ペルオキシダーゼとインドール酢酸酸化酵素活性の関係をしらべた。その結果、両ペルオキシダーゼともインドール酢酸酸化能をもち、インドール酢酸酸化酵素活性は、ペルオキシダーゼそれ自身もつ活性であることがわかった。

ペルオキシダーゼ556のもつこの活性は、pH 4が最適pHであり、マンガンイオンによって一般的に促進作用を受け、検査した 10^{-6} モルから 10^{-2} モルの間では、 10^{-3} モルがもっとも大きい促進作用があった。

ペルオキシダーゼ566の示す活性の最適 pHは6.4であり、高濃度のマンガンイオン (10^{-3} モル) によって阻害されるが、 10^{-5} モルでは、促進作用が見られ前者とは明らかにその性質を異にする。

以上の結果によって、インドール酢酸酸化酵素活性には二種あることが明らかとなったが、著者はペルオキシダーゼ556によるものを“酸性インドール酢酸酸化酵素活性”と名づけ、ペルオキシダーゼ566による活性には“中性インドール酢酸酸化酵素活性”と名づけた。

論文の審査結果の要旨

「小麦胚のヘム蛋白質の研究」と題する新君の論文は2篇からなり、第1篇では結晶として単離したペルオキシダーゼ（以下POと略）556とPO₅₆₆の精製とそれらの性質について、第2篇ではPO₅₅₆とPO₅₆₆とが植物生長ホルモンであるインドール酢酸（以下IAAと略）オキシダーゼとして作用することを論じたものである。

すでに、萩原、田川、新らは小麦胚からチトクロムcと上記2種のPOを結晶として単離することに成功しているが、抽出法として酢酸エチルや酸性処理を施すと不純物除去に効果があるが、PO₅₆₆の収量が少ない。一方それらの過激な操作を施さずに温和な方法を採用するとPO₅₅₆が得られにくい欠点があった。そこで新君は2種のPOを同時に安定な結晶とする方法を考案した。すなわち、小麦胚をリン酸ソーダ緩衝液中で均一化し、硫酸アンモニウム60%飽和にして2種のPOを塩析、チトクロムcと分別後、塩析物を上記緩衝液に懸濁、硫酸アンモニウム30%飽和にしてPOを抽出、透析後弱酸性カチオン交換樹脂（CG-50 I型）柱を通過させてPO₅₆₆を吸着させてPO₅₅₆と分別、PO₅₆₆とPO₅₅₆両区分をCG-56 II型の樹脂柱で更に精製、それぞれを結晶化したのである。得られた2種のPOのうちPO₅₅₆は西洋ワサビのPO IIと同じく典型的POであることが分光学的に明らかにされたがPO₅₆₆は従来知られたどのPOともちがって、チトクロムbに類似の吸収スペクトルをもつ新型のPOである。しかし水溶性でCO結合物をつくることおよびH₂O₂とも結合物をつくることなどでチトクロムbと区別される。これら両POの主な

性質を一括して次表に示す。

	PO ₅₆₆	PO ₅₅₆
過酸化水素結合物Ⅱの吸収帯	570mμ;540mμ	550-560mμ;520-530mμ
結 晶 形	八 面 体 晶	板 晶
分 子 量	3 2, 0 0 0	4 5, 0 0 0
IAAオキシダーゼ活性の最適pH	6 . 4	4 . 0
上記活性に及ぼすMn ⁺⁺ イオンの影響	10 ⁻⁴ Mより大なる濃度では阻害される	10 ⁻² M濃度でも促進的に作用される

両 PO の性質にはかなり大きな差異が認められるので、既報の推論、抽出精製操作中に PO₅₆₆ から PO₅₅₆ が変化して生成したものではなく、小麦胚中に 2 種とも存在するのではないかと考えるに至った。

PO が H₂O₂ の存在下で IAA を酸化することは周知のことである。小麦胚の PO₅₆₆ はその最適 pH では H₂O₂ 添加なしで、IAA を酸化することが知られた。のみならず、周知の IAA オキシダーゼ活性におよぼす Mn⁺⁺ の影響もこれら両 PO の性質に由来するものであると考えれば容易に首肯されるから、それぞれ PO₅₆₆ は中性 IAA オキシダーゼ活性、PO₅₅₆ は酸性 IAA オキシダーゼ活性をあらわすものであると結論された。

以上新君の業績は論議の多かった IAA オキシダーゼとペルオキシダーゼとの関係に明瞭な解答を与えたのみならず、新型ペルオキシダーゼの諸性質を明らかにしたものであるから、植物生理学および、酵素化学の発展に寄与することが大であると考えられる。また数篇の参考論文の成績からも優秀な研究者とみとめられる。よって新君は理学博士の学位を受けるのに十分な資格あるものと認められる。