The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	フラビン酵素の生物理化学的研究　Ⅰ．D-アミノ酸酸化酵素系に於ける電荷移動複合体に就いて　Ⅱ．フラビン類セミキノンにおける電子スピン共鳴吸収の超微細構造について
Author(s)	志賀，健
Citation	大阪大学，1962，博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/28418
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【20】

氏　名・(本籍)	志賀　健（しが　たけし）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第　289　号
学位授与の日付	昭和37年3月26日
学位授与の要件	医学研究科　生理系 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**フラビン酵素の生物理化学的研究** Ⅰ. D-アミノ酸酸化酵素系に於ける電荷移動複合体に就いて Ⅱ. フラビン類セミキノンにおける電子スピン共鳴吸収の超微細構造について
論文審査委員	(主査) 教授 久保　秀雄　(副査) 教授 西沢　義人　教授 須田　正己

論文内容の要旨

目　　的

フラビン酵素系において基質，酵素蛋白および助酵素の間に

① どのような相互作用力が働くか

② FADにおける電子の2段階移動はどの径路で行なわれるか

を化学物理の方法を応用して解析した論文である。

方法ならびに成績

Ⅰ　電荷移動複合体

材　　料：フラビン酵素の一つとしての結晶 D-アミノ酸酸化酵素

装　　置：Beckman DK-2 分光光度計

方　　針：酵素と基質あるいは基質拮抗阻害剤とが複合体を形成したときの吸収スペクトルの変化を着目し，これに電荷移動複合体理論を援用して解析を行なう。

成　　績：本酵素に基質拮抗阻害剤安息香酸類を加えると酵素FADの吸収の上に490mμの近くに新しい特殊な吸収が重り現れる。

① この新しい吸収帯は反応平衡論的に 1：1 の酵素と安息香酸との複合体であることが推論される。

② この複合体形成は基質あるいは生成物でも認められる。

この複合体は電荷移動力によって形成されたものである。

(1) 複合体の示す吸収帯は異なるCOO^-化合物を以ってしても常に一定の波長域に現れる，すなわち $h\nu$＝一定。

(2) 複合体形成の強さはCOO^-基の電子密度と逆相関にある。

(3) 電荷移動複合体理論の要求する，電子供与体のイオン化ポテンシャルI_D，受容体の電子親和

力 E_A の間にある $h\nu = I_D - E_A + 2\beta^2/(I_D - E_A)$ を根拠とするとき，電子供与体は酵素蛋白部位にあり，受容体は FAD であると結論される。

(4) COO^- 化合物は酵素蛋白と結合すると蛋白部位かから FAD へ電子移動を増強する。

電子移動は ^-OOC-R→蛋白部位→FAD の方向と推論される。

基質—酵素間においても反応の初期にこの複合体存在が認められる。

電荷移動複合体形成が脱水素反応の始発要因と見做される。

Ⅱ フラビンセミキノンの超微細構造

材　料：FAD, FMN, リボフラビン，その他イソアロキサチン誘導体

装　置：Varian 100 kc EPR spectrometer

成　績：不対電子の存在するとき一般に電子スピン共鳴吸収が見られる。これに核スピンとの交渉を検出し得る方法をとれば超微細構造が見られる。

① FAD, FMN, リボフラビンでは32本の超微細構造を認める。ただし，その電子構造の分析は至難である。

② イソアロキサチンの簡単な誘導体では18本の超微細構造を認める。その強度比は対称的に 1：3：5：7：9：11：12：12：12 である。

③ 強度比の実測値を基にして酸化還元に関与するとされている10位および1位の窒素原子での電子密度を計算するとN (10) ：N (1) ＝2：1の比で配分されている。不対電子密度の大きいN (10) は N (1) に比し優位の反応性をもつ。

FAD における 2 段階電子移動は N (10) ついで N (1) の順で行なわれると推論し得る。

総　括

D-アミノ酸酸化酵素について

(1) 電荷移動力により酵素蛋白と FAD との複合体が形成される。

(2) COO^- 化合物が蛋白の基質結合基に結合すると電荷移動が増強される。

(3) 反応初期の酵素—基質系でも電荷移動複合体が形成される。

(4) フラビンの N (10) と N (1) での不対電子分布比は 2：1 である。

要するに D-アミノ酸酸化酵素作用は脱水素（脱電子）に当り，電荷移動複合体形成なる素地の下に進行し，N (10) についでN (1) への 2 段階径路を通り，FAD は完全に還元されるといえる。

論文の審査結果の要旨

本論文の目的として

フラビン酵素系において基質，酵素蛋白および助酵素の間に

① どのような相互作用力が働くか

② FAD における電子の 2 段階移動はどの径路で行なわれるかを化学物理の方法を応用して解析した論文である。

第一の論文では，酸化還元酵素が，電荷移動複合体であるかどうか見るために実験をすすめている。

材料としてフラビン酵素の一つとしての結晶D-アミノ酸酸化酵素を用い Beckman DK-2 分光光度計を主として用いる。

本酵素に基質拮抗阻害剤安息香酸類を加えると酵素 FAD の吸収の上に 490 mμ の近くに新しい特殊な吸収が重り現れる。

① この新しい吸収帯は反応平衡論的に 1：1 の酵素と安息香酸との複合体であることを推論し，

② この複合体形成は基質あるいは生成物でも認めている。

それ故，この複合体は電荷移動力によって形成されたものであろうと結論している。

(1) 複合体の示す吸収帯は異なる COO^- 化合物を以ってしても帯に一定の波長域に現れること，（すなわち$h\nu$＝一定）

(2) 複合体形成の強さはCOO^-基の電子密度と逆相関にあることから

(3) 電荷移動複合体理論の要求する電子供与体のイオン化ポテンシャル I_D，受容体の電子親和力 E_A の間にある $h\nu = I_D - E_A + 2\beta^2/(I_D - E_A)$ を根拠とするとき，電子供与体は酵素蛋白部位にあり，受容体は FAD であると結論し，更に

(4) COO^- 化合物は酵素蛋白と結合すると蛋白部位から FAD へ電子移動を増強するので，電子移動は $^-OOC-R$→蛋白部位→FAD の方向と推論している。

また基質—酵素間においても反応の初期にこの複合体が認められ，電荷移動複合体形成が脱水素反応の始発要因と見做している。

第2の論文では電子移動はフラビンのどの部分で行われるかを用いて検討している。

材料としては FAD，FMN，リボフラビン，その他のイソアロキサチン誘導体であり，装置は Varian 100 kc EPR spectrometer を使っている。

これは不対電子の存在するとき一般に電子スピン共鳴吸収が見られること，及びこれに核スピンとの交渉を検出し得る方法をとれば超微細構造が見られることを利用し次のような成績を得た。

① FAD，FMN，リボフラビンでは32本の超微細構造を認める。ただし，その電子構造の分析は至難である。

② イソアロキサチンの簡単な誘導体では18本の超微細構造を認める。その強度比は対称的に1：3：5：7：9：11：12：12：12である

③ 強度比の実測値を基にして酸化還元に関与するとされている10位および1位の窒素原子での電子密度を計算すると N（10）：N（1）＝2：1 の比で配分されている。不対電子密度の大きい N（10）はN（1）に比し優位の反応性をもつ。

この結果 FAD における2段階電子移動は N（10）ついでN（1）の順で行われると推論している。

これらの論文の総括として，D-アミノ酸酸化酵素については，

(1) 電荷移動力により酵素蛋白と FAD との複合体が形成される。

(2) COO^- 化合物が蛋白の基質結合すると電荷移動が増強される。

(3) 反応初期の酵素—基質系でも電荷移動複合体が形成される。

(4) フラビンのN (10) とN (1) での不対電子分布比は2：1である。

要するにD-アミノ酸酸化酵素作用は脱水素（脱電子）に当り，電荷移動複合体形成なる素地の下に進行し，N (10) ついでN (1) への2段階径路を通り，FADは完全に還元されることを見出したものである。

要するに本論文は酵素系における電荷移動の型式を，電荷移動複合体なる概念および電子スピン共鳴法を適用して，解明したものであり，その新しい生物理化学的方法適用の途を伸展した意味において貴重な成績と考える。