



Title	チトクロムオキシダーゼ反応の作用機作
Author(s)	折井, 豊
Citation	大阪大学, 1963, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/28464">https://hdl.handle.net/11094/28464</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

## 【 5 】

氏名・(本籍)	折井 豊
学位の種類	理学博士
学位記番号	第 371 号
学位授与の日付	昭和 38 年 3 月 25 日
学位授与の要件	理学研究科生物化学専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	チトクロムオキシダーゼ反応の作用機作
(主査)	(副査)
論文審査委員 教授 奥貫 一男	教授 佐藤 了 教授 成田 耕造
	教授 倉橋 潔

## 論文内容の要旨

## 1. チトクロムオキシダーゼ作用における酸素化チトクロム a の意義

チトクロム a (cyt.a) が顕著なオキシダーゼ作用をあらわすためには、それが等モルの cyt.c と active oxdase complex を形成しなければならないことをすでにみいだしたが、そのさいの cyt.c の役割について不明な点が多い。一方 cyt.a を  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$  で還元したのちに空気と接触させると、426—428m $\mu$ , 603m $\mu$  に吸収極大をもつ、酸化型とも還元型とも異なる新らしい吸収スペクトルの現われることから奥貫らは還元型 cyt.a と分子状酸素との結合にもとづく酸素化チトクロム a の生成を推測した。しかし Chance, Minneart らはその存在にたいして批判的であり、またこのものの反応の場における意義についてもはつきりしたことがわかつていなかった。

本研究では p-phenylenediamine 1 アスコルビン酸を cyt.a にたいする電子供子体として用いた場合、酸素消費の起っている状態で cyt.a の示す吸収スペクトルが典型的な酸化還元型およびその混合物でもなく、かえっていわゆる酸素化型のスペクトルに相当することから、この酸素化が cyt.a より酸素分子に電子の移るさいに本質的な役割を果すのではないかと考え、吸収スペクトルの時間的変化を追跡する手段により酸素化型と酸化・還元両型との関連性を追求した。

その結果、還元型 cyt.a は酸素と接触すると直ちに酸素化型になり、ついで酸化型に移っていく過程に cyt.c が単なる電子伝達体とは異なる機能で関与することが明らかになった。さらに再構成されたオキシダーゼ系において cyt.a の吸収スペクトルの挙動よりその存在を推測した酸化の別の型、および還元型、酸素化型という cyt.a の三種の存在型の間に動的平衡のなりたっていることをみいだし、cyt.a が単純な酸化還元反応をするものではないことを明らかにした。

しかしこの平衡が成立するためにも cyt.c が必要であったことから、cyt.c の電子伝達体、およびオキシダーゼ反応における補酵素的役割という機能の二様性について論ずるとともに、反応下における

cyt.a の循環的変化の模式を提示した。

## 2. チトクロム a の吸収スペクトルによよばす過酸化水素の効果

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$  で cyt.a を還元したのちに空気と接触させると酸素化チトクロム a が生じる。もしこのさいに  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$  が分解産物として  $\text{H}_2\text{O}_2$  をだすものならば、 $\text{H}_2\text{O}_2$  が cyt.a と結合する可能性を考えられ、この結合物を酸素化チトクロム a と見なしてしまうおそれがある。実験的には  $\text{H}_2\text{O}_2$  の生成する可能性を否定したが、本研究ではさらに酸素化チトクロム a と  $\text{H}_2\text{O}_2$ -cyt.a 結合物の関連について追求した。

還元型 cyt.a に  $\text{H}_2\text{O}_2$  を添加するとその濃度の程度によらず吸収スペクトルが変化する。しかしこのスペクトルは  $428\text{m}\mu$  に吸収極大のある鋭い吸収帯と、 $410\text{m}\mu$  附近に吸収の肩をもつ点において酸素化チトクロム a の吸収スペクトルとは異なる。そして  $\text{H}_2\text{O}_2$  の濃度が低いと  $428\text{m}\mu$  の吸収極大な時間のたつにつれて短波長側に移っていき、その過程で酸素化型のに類似した吸収スペクトルを示す。

$\text{H}_2\text{O}_2$  の濃度が高いと cyt.a の壊れる場合がある。一方酸素化チトクロム a に  $\text{H}_2\text{O}_2$  を添加すると吸収極大の位置は  $426\text{m}\mu$  より  $428\text{m}\mu$  に移り吸収帯も鋭くなる。また  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$  が存在すると酸素は効果的に cyt.a と結合しないのに、 $\text{H}_2\text{O}_2$  は容易に結合することからも酸素化チトクロム a が  $\text{H}_2\text{O}_2$ -cyt.a 結合物とは異ったものであることは明らかで、正常なオキシダーゼ反応において後者の生じる可能性は考えられない。

この両者の関連について、 $\text{H}_2\text{O}_2$  が cyt.a の存在する場合には分解され、その程度が cyt.a の量に比例すること、およびカタラーゼ阻害剤により顕著な阻害効果が認められることから cyt.a にカタラーゼ作用のあることが考えられ、この活性が  $\text{H}_2\text{O}_2$ -cyt.a 結合物が適当な条件下酸素化型に移るにあたってなんらかの役割を果すのであろうと推定した。

## 論文の審査結果の要旨

折井君の主論文、"チトクロムオキシダーゼ反応の作用機作"は二篇からなり、チトクロム a と c の活性複合体のヘム鉄が単純な原子価変換を行なってチトクロムオキシダーゼ活性をあらわすものでなく、還元型チトクロム a は酸素と結合し、酸素化チトクロム a を形成すること、および、それがチトクロム c の存在下で酸化の別の型にうつり、さらに電子を得て還元型にもどることを証明したものである。

水亜流酸ナトリウム ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ ) あるいはアスコルビン酸とパラフェニレンジアミンを還元剤として高純度のチトクロム a を還元型にして空気に触れさせると酸素化型になり、 $\alpha$  および  $\gamma$  吸収帯をそれぞれ  $603\text{m}\mu$  と  $426$ — $428\text{m}\mu$  にあらわす。もし、これが酸化型と還元型の混合物のあらわす吸収帯であるならば、これから酸化型もしくは還元型をつくる場合に吸収曲線を経時的に追跡すれば、酸化型と還元型の等吸収点である  $467\text{m}\mu$  と  $432\text{m}\mu$  で交叉しなければならない。しかし、実験の結果は  $465\text{m}\mu$  と  $427\text{m}\mu$  に等吸収点があらわれたのみならず、酸素化型と還元型もしくは酸化型の差スペクトルを比較した結果からも酸素化型吸収曲線が酸化型と還元型の混合物であることを暗示する事実が得られなかった。

さらに、微量のチトクロム c 存在下でチトクロムオキシダーゼ活性をあらわしている反応下における定常状態では、チトクロム a の三種の存在型、すなわち、酸化の別の型、還元型、酸素化型の間で動的

平衡が成立していることを明示した。たとえば、酸化型に還元剤を添加して経時的に吸収曲線の変化を追跡すると等吸収点が  $457m\mu$ ,  $439m\mu$  および  $420m\mu$  にあらわれ、酸化型吸収曲線を基準にした差スペクトルを描くとこれら三点はいずれも基準線からはずれた位置にある。したがって、酸化型それ自身ではなく、酸化の別の型がチトクロムオキシダーゼ活性発現時に関与していると結論される。

チトクロムオキシダーゼ系におけるチトクロム c は、チトクロム a 単独で存在した場合の挙動をかえるとともに、酸素化型が他の型にかわる反応を促進する作用があるから、チトクロム c は単なる電子伝達体としての作用以外に助酵素的作用をもかねそなえたものであると結論される。

要するに折井君の研究はチトクロム a の機能が単純な酸化還元のみではなくてチトクロム c と共存し酵素活性をあらわす場合に酸素化型、酸化の別の型を経て電子を受容して還元型にもどることをチトクロム c の a に対する量比をかえて実験証明したものである。したがって、この論文は細胞呼吸の末端酸化酵素に関して劃期的知見を加えたものと考えられるから、参考論文の知見とあわせて理学博士の学位論文として十分に価値があると認める。