

Title	Homogentisin酸よりGentisin酸の形成について
Author(s)	渡辺, 博茂
Citation	大阪大学, 1964, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/28594
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	渡 辺 博 茂 わた なべ ひろ しげ
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 519 号
学位授与の日付	昭和 39 年 3 月 25 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	Homogentisin 酸より Gentisin 酸の 形成について
	(主 査) (副 査)
論文審査委員	教授 坂本 幸哉 教授 萩原 文二 教授 須田 正己

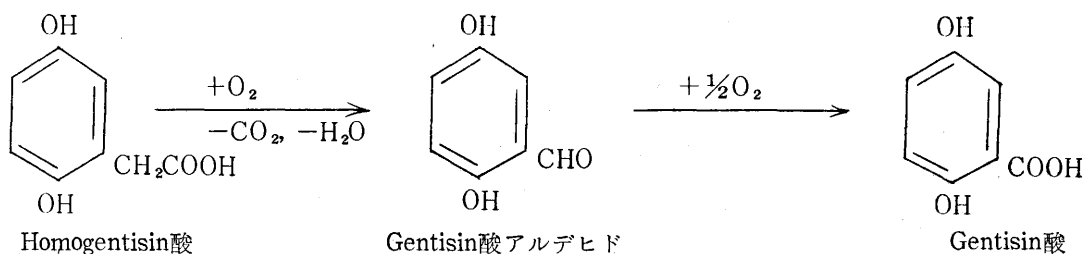
論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

以前報告された如く、哺乳動物のフェニールアラニン代謝経路において、Homogentisin 酸の核開裂によるフマル酸とアセト酢酸の形成が阻害される種々の条件下では、Homogentisin 酸の側鎖の短縮により、Gentisin 酸の形成を行なう酵素反応が促進される。著者はさらにこの反応を検討し、その酵素学的性格を明らかにする目的でこの研究を行なった。

〔方法及び成績〕

体重 120~150g の雄ラットの肝臓を冷生理的食塩水で還流後取り出し、0.25M 蔗糖溶液で均一化し、その 100,000×g 遠沈上清部をストレプトマイシン処理、熱処理、硫酸分割、及び磷酸カルシウム処理によって Homogentisin 酸の酸化脱炭酸により、Gentisin 酸アルデヒドを形成する酵素と、Gentisin 酸アルデヒドをさらに Gentisin 酸に酸化する酵素とに分離し、その各々をさらに精製しそれらの酵素学的性格に検討を加えた。



(1) Homogentisin 酸の酸化的脱炭酸酵素

熱処理を行なった上清部の 45~80%飽和硫酸分劃の燐酸カルシウムゲル非吸着部を DEAE セルロースカラム吸着溶離法、再硫酸分劃 (40~70%飽和) 及びアセトン分劃によって粗抽出液より比活性にして約 100 倍に精製した。本酵素は電気泳動法により単一のパターンを認め、NADPH 再生系の反応系への添加により、著明に促進される。またこの酵素反応を検圧法によって検討したところ酸素 2 原子の消費につき、ほぼ 1 分子の炭酸ガス発生とほぼ 1 分子の Gentisin 酸アルデヒドの形成を認めた。この酵素を用い Homogentisin 酸を基質として反応を行ない Gentisin 酸アルデヒドを結晶として分離した。また従来考えられていた中間体、2,5 dihydroxyphenylglycol 酸、2,5 dihydroxyphenylglyoxyl 酸は中間体として証明し得なかった。従ってこの反応は一段階で酸化的脱炭酸を行なっており、Oxygenase の可能性がつよいと考えられる。尚本酵素は 10^{-4} M *p*-Chloromercuribenzoate によって完全阻害を受ける。この酵素反応の至適 pH は約 7.2 であり、Homogentisin 酸に対する K_m 値は約 5×10^{-4} M である。

(2) Gentisin 酸アルデヒド酸化酵素

同じく熱処理を行なった上清部の 0~45%飽和硫酸分劃の燐酸カルシウムゲル吸着部を、0.05M 燐酸緩衝液 (pH7.2) で溶出し再硫酸分劃 (0~40%飽和) を取ることによって粗抽出液により比活性にして約 50 倍に精製した。本酵素は酸性硫酸処理によって活性化するが、FAD の添加によって活性が回復するので一般のアルデヒド酸化酵素と考えられる。本酵素も 10^{-4} M *p*-Chloromercuribenzoate によって完全に反応が阻害される。この酵素反応の至適 pH は約 7.4 であり、Gentisin 酸アルデヒドに対する K_m 値は約 5×10^{-5} M である。

〔総括〕

本研究は Homogentisin 酸より Gentisin 酸の形成を行なう酵素系を分離精製し、その酵素学的性格を検討したものである。

論文の審査結果の要旨

本論文は Homogentisin 酸より Gentisin 酸を形成する酵素系を、二つの酵素に分離精製し、その性格並びに作用機作に検討を加えたものである。

Homogentisin 酸は二価鉄酵素である Homogentisate Oxygenase の作用によりフマル酸とアセト酷酸に迄代謝されることが知られているが、さきに坂本らは肝抽出液に金属阻害剤を加えることによってこの系路が阻害され、Homogentisin 酸より Gentisin 酸形成が行なわれることを示した。この事実は *in vivo* でも認められていたが、著者はラッテ又は家兎の肝臓から、Homogentisin 酸より Gentisin 酸形成を行なうことの出来る酵素系を取り出すことに成功し、それを更に Homogentisin 酸から Gentisin 酸アルデヒドを形成する酵素と Gentisin 酸アルデヒドから Gentisin 酸を形成する酵素とに分離精製した。

前段階に働く酵素は単一で一段階的に酸化的脱炭酸が行なわれていることを確かめ、更にフラビン酵素であることを推定すると共にこの酵素が Oxygenase であろうことを示唆した。

後の段階に働く酵素は肝臓に於ける一般のアルデヒド酸化酵素であることも確かめ得た。

以上の成績より本論文は Homogentisin 酸より Gentisin 酸を形成する酵素系を解明し, Phenylalanine, Tyrosine 代謝の新しい経路を確立させたもので アミノ酸代謝の研究上極めて興味ある知見と考えられる。