Osaka University Knowledge Archive

Title	酵母の亜硫酸還元酵素に関する研究　I　酵素の精製と性質　II　分子内電子伝達系に関与する因子とその経路について
Author(s)	吉本, 昭夫
Citation	大阪大学, 1966, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/28860
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【19】

氏名・(本籍)	吉本昭夫（よしもとあきお）
学位の種類	理学博士
学位記番号	第 874 号
学位授与の日付	昭和41年3月28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	**酵母の亜硫酸還元酵素に関する研究** **Ⅰ 酵素の精製と性質** **Ⅱ 分子内電子伝達系に関与する因子とその経路について**
論文審査委員	(主査) 教授 佐藤 了 (副査) 教授 奥貫 一男　教授 倉橋 潔　教授 萩原 文二

論文内容の要旨

酵母および細菌の硫酸同化経路について多くの研究が行なわれ，この経路の各段階に関与する酵素系について多くの知見が得られている。

この経路で，亜硫酸を硫化水素に還元する酵素はすでにいろいろの微生物から部分的に精製され，その若干の性質について報告されている。この酵素は $NADPH_2$ を水素供与体として亜硫酸のほかに亜硝酸，ヒドロキシルアミン，チトクローム，キノン類およびいろいろの色素類を還元することが知られている。また還元型メチルビオローゲンによっても亜硫酸を還元する。突然変異株の栄養要求性とこれら種々の基質を還元する活性との関連，反応動力学的な研究などから，この酵素の生理的な役割として硫酸同化の主経路に直接関与するものと考えられている。

しかしながら，まだ十分精製されていなかったため多くの疑問がのこされたままであった。そこで今回まずこの酵素の精製を試み，市販パン酵母よりトルエン存在下での自己消化，硫安分画，DEAE セルローズおよび DEAE セファデックスカラムクロマトグラフィー，セファデックス G—200によるゲルろ過などの手段によって，超遠心的にほぼ均一な標品をうることができ，さらにその性質についてもしらべた。その結果，この酵素は約35万の分子量をもち，1分子内にそれぞれ1分子のFMNおよびFAD，約6個のSH基，385 mμ および587mμ に吸収極大をもつ色素体，さらに低濃度塩溶液中で不安定な因子をもつことがわかった。加熱処理，低濃度塩溶液および紫外線照射などによる処理，酸性硫安液処理によるFMNの選択的な脱離とそれの再添加，さらに阻害剤などによりひきおこされるいろいろの基質を還元する活性および吸収スペクトルの変化をしらべることによって，この酵素にふくまれるこれらの因子はすべて亜硫酸還元反応に直接関与していることが確認された。

また，亜硫酸を唯一の硫黄源としては生育することができない突然変異株の菌体より，還元型メチ

ルビオロゲンだけを水素供与体として亜硫酸を還元する酵素を精製し，その分子の大きさ，補欠分子族，触媒活性などを，上記市販酵母より精製したものと比較検討した。

以上の実験によって，この亜硫酸還元酵素分子内において，$NADPH_2$ より渡された電子は SH 基，低濃度塩溶液で不安定な因子，FAD，FMN，さらに 587mμ に吸収極大をもつ色素体を経て，最終的に亜硫酸に渡されるという電子伝達系での，各因子の役割とその序列について知見をうることができた。

論文の審査結果の要旨

多くの微生物には $NADPH_2$ を水素供与体として亜硫酸を硫化水素に還元する酵素が含まれており，この酵素が硫酸の同化に重要な役割を果していることが知られている。この亜硫酸還元酵素はいくつかの微生物から部分的に精製され，その性質が研究されているが，その化学的本性や反応機作はまだ十分に明らかにされていない。

吉本君はパン酵母からはじめてこの酵素を超遠心的にほぼ均一の状態にまで精製することに成功し，その化学的本体を詳細に検討した。それによると，この酵素は分子量約 350,000のかなり複雑な構成をもつ蛋白質であり，酵素1分子あたり，それぞれ1分子ずつの FAD および FMN をもつほか，587mμ に特異な吸収帯を示す色素体（587mμ 色素体）を含むことが明らかになった。さらに，PCMBならびに低イオン強度処理の効果の研究から，SH基および低イオン強度によって容易に不活性化される因子も亜硫酸還元活性に関与しているものと結論された。

種々の根拠から，この酵素の生理的な作用は $NADPH_2$ による亜硫酸の還元にあることは明らかであるが，この酵素はこれ以外にも多様な触媒活性を示す。すなわち，この酵素の存在下で $NADPH_2$ は亜硫酸のみならず，亜硝酸，ヒドロキシラミン，チトクローム c，各種酸化還元色素，キノンなどを還元する。またこの酵素は還元型メチルビオローゲン（MVH）を供与体として亜硫酸を還元する活性をもっている。

吉本君はこれら多様な還元活性の機作を解明するため，各種阻害剤の影響，低イオン強度処理，熱処理，酸性硫安処理，紫外線照射などの効果を詳細に研究し，その結果，この酵素分子内には次のような電子伝達径路がはたらいているとの結論に達した。すなわち，$NADPH_2$ からの電子はまずSH基に渡され，つづいて低イオン強度感受性因子，FAD，FMN，587mμ 色素体を経て亜硫酸，亜硝酸およびヒドロキシラミンに伝達されるものと思われる。$NADPH_2$ によるチトクローム c，酸化還元色素，キノン等の還元に際しては，上記の電子伝達径路のFMNの段階から電子がこれらの受容体に移される。一方 MVH からの電子は FMN あるいは 587mμ 色素体に入り，そこから亜硫酸に流れるものと考えられる。

吉本君はさらに亜硫酸を硫黄源として生育し得ない数株の突然変異株から遺伝的に変化した亜硫酸還元酵素を精製し，これが $NADPH_2$ を用いることはできないにもかかわらず，MVH を用いて亜硫酸を還元し得ることを明らかにした。またこの遺伝的に変化した酵素の性質を詳細に研究した。

以上のように，吉本君の研究は従来不明であった微生物の亜硫酸還元の酵素的機作を明確にし，また酵素分子内の複雑な電子伝達径路を解明したものであり，理学博士の学位論文として十分の価値をもつものと認められる。