



Title	D-アミノ酸酸化酵素の励起状態　I 蛍光　II 光化学反応
Author(s)	近藤, 義郎
Citation	大阪大学, 1966, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/29058
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	近藤義郎
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 944 号
学位授与の日付	昭和41年3月28日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	D-アミノ酸酸化酵素の励起状態 I 融光 II 光化学反応
論文審査委員	(主査) 教授 久保秀雄 (副査) 教授 近藤宗平 教授 山野俊雄

論文内容の要旨

〔目的〕

フラビン酵素の酵素蛋白-助酵素間の相互作用については吸収スペクトル、電子スピン共鳴法などによってくわしく研究されている。しかし、その励起状態についてはほとんど知られていない。そこでフラビン酵素の1つであるD-アミノ酸酸化酵素について蛋白に結合したフラビン(FAD)が遊離のFADに比較してどの様な挙動を示すか、電子レベルでどんな差があるかをしらべるのが本研究の目的である。また単にFADと酵素との質的な差に止まらず、基質-酵素間の反応初期の変化と同質の吸収スペクトル変化をもたらす低分子物質(安息香酸類や焦性ブドウ酸)との相互作用に注目し、これら基質拮抗阻害剤または反応の生成物が酵素に結合することによって惹き起こされるFADの励起状態の変化について詳細に調べた。

〔方法〕

励起一重項状態に関しては、FADの螢光について、また励起三重項状態に関してはFADを増感剤とする光化学的メチレン青還元反応を指標として実験をすすめた。

装置は螢光については螢光分光光度計を用いて、530m μ におけるフラビンの螢光を測定し、光化学反応についてはメチレン青の光吸収の減少を分光光度計によって測定した。何れの場合も励起光はフラビンの最長波長端吸収に相当する単色を用いた。

〔成績〕

I 螢光については(1)先ずFADとπ電子系とでモデル系(電荷移動複合体)を作り、両者の間の相互作用を分析し次の結果を得た。

(i) Adenosine, Tryptophan, Theophyllin, Caffein, HypoxanthineおよびHistidineはFADの螢光を完全に消光する。

- (ii) 消光は両者の間の 1 : 1 複合体形成に伴う静的なものである。
 - (iii) 平衡の過程 ($A + B \rightleftharpoons A B$) は遷移の過程 ($A \xrightleftharpoons[h\nu]{h\nu'} A^*$) に比較して速かである。
 - (iv) 基底状態における結合力 (光吸収により測定) は励起状態における結合力より弱い。
 - (v) 結合力は上記の順に強くなっている。
- (2) 次に D-アミノ酸酸化酵素について
- (i) 酵素の FAD は遊離 FAD に比較して螢光強度が弱い。螢光スペクトルの形は変わらない。
 - (ii) P-ニトロ安息香酸, 安息香酸, トルイル酸, P-アミノ安息香酸および焦性ブドウ酸は酵素に結合して FAD をさらに消光する。
 - (iii) この消光は不完全消光であり, 安息香酸類と酵素との 1 : 1 複合体形成に伴なう静的なものである。
 - (iv) 励起状態での結合力は基底状態における結合力より強い。
 - (v) 結合力は上記の順に強い。また結合力の強いものほど消光能は弱くなっている。
 - (vi) 結合力は carboxyl 基の酸素の電子密度よりも, benzene 環の π 電子密度がより重要な決定因子として働いている。
 - (vii) 消光の程度の差については振動状態の変化を考慮に入れると説明できる。

II 光化学的増感反応について

- (i) FAD の三重項状態の分子と反応して電子供与体となるためには一定の電子構造が要求される。
- (ii) 酵素の FAD の三重項状態の分子と反応するためには上の条件をみたし, 更に酵素の基質結合基と結合しなければならない。
- (iii) 焦性ブドウ酸は上の 2 つの条件をみたすので, 酵素 FAD に対して効率のよい電子供与体となる。但し, 螢光を消光するからこの消光の機構は三重項状態への遷移が増していることも考えなければならない。
- (iv) 還元された FAD とメチレン青との電子授受反応は遊離 FAD では酵素の FAD より速い。

以上 I, II 編を総合すると (i) 酵素と結合した FAD では遊離の FAD に比して励起三重項状態の反応性はむしろ増大している。 (ii) 励起状態では結合力は基底状態より強く, 酵素の場合は π 電子系間相互作用が carboxyl 基によるイオン間相互作用より大きな意味をもつていて。 (iii) FAD の三重項状態と外から加えた物質との間の酸化還元反応に対して, 酵素の立体的な基質特異性が決定的な役割をはたす。 (iv) この立体的な特異性は還元型 FAD とメチレン青との酸化還元反応についても成立っている。

論文の審査結果の要旨

本研究は, D-アミノ酸酸化酵素において基質類似体と酵素との結合の電子論的メカニズムを解明

しようとの企画のもとに行なわれた。すなわち、酵素に結合した補酵素 FAD の状態が、基質類似体との結合によってどのような変化を受けたかについて、特に FAD の励起状態に焦点をおいて研究されている。

まず、励起一重項状態の指標として、酵素 FAD の螢光に対する基質類似体の影響をしらべ、励起一重項状態においては酵素蛋白、FAD 間の結合力は基底状態におけるより強くなっている、安息香酸誘導体に関しては、そのベンゼン環部の π 電子密度が大きい程結合力が弱いが FAD の螢光消光度は大きいことを示し、その可能なメカニズムとして振動状態の変化をあげている。

次いで、励起三重項状態の観測手段として光化学反応をとり上げ、酵素 FAD の光化学的還元反応に際して電子供与体となり得るためには基質側に一定の電子構造が要求せられる事および光化学反応がすむためにはまず酵素と基質が結合しなければならぬ事を示した。

以上、要約すると、本論文では、酵素 FAD の励起一重項状態が基質類似体により消光されるメカニズムをとらえ、また、励起三重項状態について酵素 FAD の方が遊離 FAD より反応性に富むことを明らかにしている。