

| | |
|--------------|---|
| Title | パパインの活性中心の研究 |
| Author(s) | 森原, 憲作 |
| Citation | 大阪大学, 1966, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/29071 |
| 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

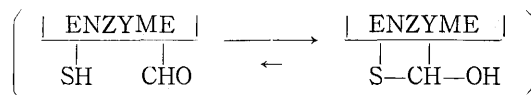
| | |
|---------|---|
| 氏名・(本籍) | 森 原 憲 作 もり はら けん さく |
| 学位の種類 | 理 学 博 士 |
| 学位記番号 | 第 9 4 2 号 |
| 学位授与の日付 | 昭 和 41 年 3 月 28 日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第 5 条第 2 項該当 |
| 学位論文題目 | パパインの活性中心の研究 |
| 論文審査委員 | (主査) 教 授 成 田 耕 造 |
| | (副査) 教 授 佐 藤 了 教 授 奥 貫 一 男 教 授 松 島 祥 夫 |

論 文 内 容 の 要 旨

本研究は、植物性の蛋白加水分解酵素であるパパインの活性中心の存在状態に関するもので、カルボニル試薬及びSH試薬によるパパインの系統的阻害実験、その結果に基づく新しい活性中心の模型の提唱、及びその模型の正当性の検証実験を骨子としたものである。

パパインの活性中心は、高エネルギー結合の分子内チオールエステルであるという仮説が、E. L. Smith によって提唱されている。この仮説は、今日、検討に価する唯一の理論であり、この酵素の二三の挙動が説明されるが、他方、パパインの最も基本的かつ顕著な性質である活性化現象の機構、カルボニル試薬による阻害の機構などが、全く説明され得ない。

著者は、この酵素がヒドラジン系統のカルボニル試薬で顕著に阻害されるという、M. Bergmann 以来の古典的実験事実より出発し、活性メチレンを有するカルボニル試薬（ジメドン、ジケトヒドリンデン、ジメチルバルビツール酸）とSH試薬（N-エチルマレイニンイミド、ニンヒドリン、ジメチルアロキサン）を用いて、系統的阻害実験を行ない、その実験結果に基づいて、Smith のチオールエステル仮説を否定した。更に著者は、パパインの活性中心には、SH基ばかりでなく、未知のアルデヒド様の官能基も同時に含まれ、酵素反応に関与していることを推定し、次に図示される様な、動的な、新しい活性中心の模型を提唱した。



この模型は、Bergmann 以来のカルボニル活性中心説と、現今、主流をなしているチオール活性中心説を総合包含するものである。

この模型に基づけば、パパインの阻害剤に対する挙動ばかりでなく、活性化の機構、活性化剤の機

能、水銀パピインの生成機構、活性中心のSH基の特異な挙動など、現在まで、未解決の問題が全て統一かつ合理的に説明できる。また有機化学的に無理のない酵素反応機構をも推定することができる。

次いで、この模型の正当性を実証するため種々の実験を行ない、メルカプトエタノールで活性化したパピインに対して馬尿酸フェニルヒドラジッドが特異的阻害をもたらすこと、青酸で活性化したパピインを水銀塩で処理すれば、潜在的に活性化された水銀パピインが調製できること、その酵素標品がEDTAのみの作用で活性化されること、未処理パピインとシステインで活性化したパピインにのみ、酵素的に有意義に、放射性青酸のとりこみがみられる事等を見出した。これらの結果のすべては新しい活性中心の模型から予期され、かつこの模型に基づいてのみ、説明されるものである。この事によって、この模型が、パピインの研究を進めるのに、有効であることを示した。

論文の審査結果の要旨

パピインの活性中心に関しては従来チオール活性中心説とカルボニル活性中心説とが相対立をしていた。前者は還元剤の添加によって活性化され、また酸化剤、SH試薬によって活性が阻害される事実に立脚しており、後者はフェニルヒドラジンのようなカルボニル試薬によって阻害される事実に立脚している。

森原君はこれら二説を支持する実験結果を巧みに説明できる新しいチオヘミアセタール説を提唱し



このチオヘミアセタール説を支持する数多くの実験的根拠を与えた。すなわち、従来還元剤と考えられていた青酸、システインなどがパピインに結合し得る可能性に着目し、¹⁴C 青酸の結合したパピインを分離した。このことはチオシアンヒドリンあるいはチオアセタール型構造に活性中心が変換したことを強く示している。またカルボニル試薬を結合させたパピインでは予期されるSH基量が分析できること、還元剤の共存なしにEDTAのみで活性化される新しい型の水銀パピインを調製し得ること、カルボニル試薬で阻害した失活パピインには¹⁴C 青酸が取り込まれないことなどを示した。これら事実はチオヘミアセタール活性中心説のみによって説明できるものである。

森原君の上述の研究は、カルボニル基の本体については明らかになし得なかったけれども、従来の相入れない二つの説の弱点を見事に解決する仮説を提出し、この説を実験的根拠によって示したもので、蛋白質分解酵素の活性中心に関する興味ある問題に大きな貢献をなすもので3篇の副論文とともに理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。