



|              |  |
|--------------|--|
| Title        | 動物の分岐鎖アミノ酸- $\alpha$ -ケトグルタル酸トランスアミナーゼに関する研究   |
| Author(s)    | 小山, 栄三   |
| Citation     | 大阪大学, 1968, 博士論文   |
| Version Type |  |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/29636">https://hdl.handle.net/11094/29636</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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 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

## 【 5 】

氏名・(本籍) 小山栄三  
 学位の種類 歯学博士  
 学位記番号 第1406号  
 学位授与の日付 昭和43年3月28日  
 学位授与の要件 歯学研究科歯学基礎系  
 学位規則第5条第1項該当  
 学位論文名 動物の分岐鎖アミノ酸- $\alpha$ -ケトグルタル酸トランスアミナーゼに関する研究  
 論文審査委員 (主査) 教授 竹田義朗  
 (副査) 教授 山本巖 教授 小谷尚三

## 論文内容の要旨

バリン、ロイシン、イソロイシンは何れも心須アミノ酸であり、また構造的にも極めてよく類似したいわゆる分岐鎖アミノ酸である。これら三つのアミノ酸は栄養学的にも互いに拮抗する性質を有し、その上バリンは Glycogenic、ロイシンは Ketogenic、イソロイシンは両者の性質を有するなど生理的にも甚だ興味あるアミノ酸である。

一般にアミノ酸代謝における初発反応はトランスアミネーションによる脱アミノ反応であり、他のアミノ酸については既によく研究されている。しかし乍らこれら三つの分岐鎖アミノ酸のトランスアミナーゼについてはこれまで系統的に殆んど研究されておらずその存在すら明らかではなかった。

そこで、本研究においてはまずネズミ各種臓器における $\alpha$ -ケトグルタル酸をアミノ基受容体とする分岐鎖アミノ酸トランスアミナーゼの検索を行うとともにその臓器分布を検討し、ついでブタ心筋より本酵素を分離精製してその諸性質について研究を行った。

ネズミ各種臓器の 5,000×g 15分の遠心上清を酵素標品として、分岐鎖アミノ酸- $\alpha$ -ケトグルタル酸トランスアミナーゼの分布を検討し、次の様な結果を得た。

心臓、腎臓が単位蛋白重量当り最も高い比活性を示し、骨格筋がこれにつき、肝臓は最も低い事を見出した。基質としてはロイシンあるいはイソロイシンが良く、バリンはどの臓器でも弱かった。次に、ネズミ心筋について細胞内分布をみると本酵素活性は可溶画分に於て、三つのアミノ酸何れに対しても高い活性を示した。一方ミトコンドリア画分にも全酵素活性の約 $\frac{1}{3}$ が存在し洗滌によっても可溶化されなかった。従って本酵素は可溶画分とミトコンドリアに2種類のアイソザイムが存在することが分った。

次に酵素活性の強い心筋を用いて可溶画分局在酵素の精製を試みた。酵素源としてブタ心筋を用い、硫酸分画、DEAE セルローズカラムクロマトグラフィーにより約60倍に精製した。この精製過

程中、各段階において三つの分岐鎖アミノ酸に対する活性比は殆んど変動せず、ロイシンに対する活性比を1とするとバリンは約0.7、イソロイシンは約1.2であった。この事実はこれら三つの分岐鎖アミノ酸に対するトランスアミナーゼが同一の蛋白であることを強く示唆している。このことをさらに詳しく検討するために精製した酵素標品についてその諸性質を調べた。

三つのアミノ酸に対する至適pHは何れも8.6であった。精製された本酵素は不安定であるがメルカプトエタノールとピリドキサールリン酸を添加しておけば著しく安定化されることが分った。本酵素は熱に対しても甚だ不安定で、この熱による失活速度はこれら三つの分岐鎖アミノ酸の何れを基質とした場合にも同一であった。

本酵素は他のトランスアミナーゼ同様ピリドキサールリン酸を助酵素とし、この助酵素の  $K_m$  は  $6.7 \times 10^{-5} M$  であった。また基質に対する  $K_m$  はバリンに対して  $1.1 \times 10^{-2} M$ 、ロイシンに対して  $3.8 \times 10^{-3} M$ 、イソロイシンに対して  $3.8 \times 10^{-3} M$ 、 $\alpha$ -ケトグルタル酸に対して  $6.3 \times 10^{-4} M$  であった。

また本酵素は基質特異性が高く、バリン、ロイシン、イソロイシンの他ノルバリン、ノルロイシンに対して若干の活性を示すのみで、他のアミノ酸に対しては全く活性を示さなかった。反応は可逆的であった。またアイソトープ実験によりロイシンを基質とした場合、バリン、イソロイシンは何れも拮抗的に反応を阻害することが分った。なおバリンに対する  $K_i$  は  $6.22 \times 10^{-3} M$ 、イソロイシンに対する  $K_i$  は  $1.03 \times 10^{-3} M$  であった。以上の事実はこのトランスアミナーゼはこれら三つの分岐鎖アミノ酸に特異的であり、かつこれら三つの分岐鎖アミノ酸は单一酵素によりアミノ基転移反応が触媒されることを示している。

また一方、GOT および GPT は分岐鎖アミノ酸に対して全く活性を示さなかった。また本酵素は従来報告されている他のトランスアミナーゼとも全く異った新しい酵素であることが分った。

以上を要約すると、従来不明であった動物組織の分岐鎖アミノ酸トランスアミナーゼについて検討を加え、 $\alpha$ -ケトグルタル酸をアミノ基受容体とする分岐鎖アミノ酸に特異的なトランスアミナーゼの存在を始めて証明し、併せてその諸性質を明らかにした。

#### 論文の審査結果の要旨

本研究は、従来不明であった動物組織の分岐鎖アミノ酸アミノ基転移反応について検討を加え、 $\alpha$ -ケトグルタル酸をアミノ基受容体とする特異的な分岐鎖アミノ酸トランスアミナーゼの存在をはじめて明らかにし、その性状についても重要な知見を得たものとして価値ある業績であると認める。

よって本研究者は歯学博士の学位を得る資格があると認める。