



Title	脳のN α (γ -アミノブチリル) リシンの分離とその水 解酵素
Author(s)	公文, 明
Citation	大阪大学, 1969, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/29707
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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	公 文 明 く もん あきら
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 1 6 3 4 号
学位授与の日付	昭 和 4 4 年 3 月 2 8 日
学位授与の要件	医 学 研 究 科 内 科 系
学位論文題目	学位規則第5条第1項該当 脳の N^{α} (γ -アミノブチリル) リシンの分離とその水解酵素
論文審査委員	(主査) 教 授 金 子 仁 郎 (副査) 教 授 佐 野 勇 教 授 坂 本 幸 哉

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

脳には、他の臓器にみられない種々のアミノ化合物が存在し、脳の各アミノ酸含有量も他の組織と異なる。数種の酸可溶性分画を、イオン交換樹脂をもちいて5つの分画（酸性アミノ酸分画、中性 α -アミノ酸分画、中性 ω -アミノ酸分画、塩基性イミダゾールアミノ酸分画および塩基性脂肪族アミノ酸分画）にわけ、各分画の2次元濾紙クロマトグラフィーを行ない、脳と他の臓器のアミノ化合物を比較した。その結果、検出された数十のニンヒドリン陽性物質の一つが、家兎、牛、犬、ラットおよびモルモットの脳に特異的な未同定物質であった。本物質を牛脳から分離し N^{γ} -(γ -アミノブチリル) リシン（以下 $H\cdot\gamma$ Abu-Lys·OH と略す）であると同定し、ついで本物質の水解酵素を豚腎皮質より部分精製した。

〔方法ならびに成績〕

I. $H\cdot\gamma$ Abu-Lys·OH の分離同定

$H\cdot\gamma$ Abu-Lys·OH の合成：混合酸無水法により N^{γ} -(cbz- γ Abu)- N^{ϵ} -(cbz) Lys·OH を合成し、接触還元後 $H\cdot\gamma$ Abu-Lys·OH をえた。これを酢酸塩として結晶化した。

牛脳からの未同定アミノ化合物の分離同定：新鮮な牛脳82Kgの5%トリクロル酢酸抽出液を Amberlite IR 120 H⁺ 型に通し、水および1Mピリジンで洗ったのち4Mアンモニア：エタノール（1：1）で溶出し塩基性アミノ酸分画をえた。この分画を Amberlite CG 50 NH₃⁺ 型に通し、水洗後4Mアンモニアで溶出し、塩基性脂肪族アミノ酸分画をえた。さらにこれを Amberlite IR 120 NH₄⁺ 型上で、アンモニアを溶出液として分画精製したのち、目的とする物質を含む分画を Amberlite CG 50 NH₄⁺ 型上で、0.2M アンモニアをもちいて展開してさらに精製し、目的の未同定物質を酢酸塩として 18.4mg の結晶を単離した。

単離化合物は、酸水解により等モルの γ -アミノ酪酸とリジンとを生じ、DNP 化したのち酸水解すると DNP- γ -アミノ酪酸と N^ε-DNP リジンを生じた。以上の結果から本物質を H- γ Abu-Lys-OH と推定した。合成品と単離化合物とは、アミノ酸分析装置での溶出部位、沔紙クロマトグラフィーでの R_f、高圧沔紙電気泳動の泳動距離および赤外吸収スペクトルで一致した。以上より脳からの単離化合物を H- γ Abu-Lys-OH と同定した。

II. H- γ Abu-Lys-OH の水解酵素

家兎の各臓器で H- γ Abu-Lys-OH 水解活性を検討したところ腎に最も強い活性をみとめ、また豚の腎にも強い活性をみとめたので豚腎皮質から、抽出、硫酸分画、アセトン処理、硫酸分画および hydroxylapatite 処理の操作で本酵素を62倍に部分精製した。

一般的性質：酵素は H- γ Abu-Lys-OH を非可逆的に水解する。至適 pH は 6.1~6.8 で K_m は 9.8×10^{-3} M である。

基質特異性：54 種の基質を調べたところ、この酵素が水解するジペプチドは下記の性質を有していた。

- 1) C 末端は脂肪族の塩基性アミノ酸である。
- 2) N 末端は ω -アミノ酸のみならず α -アミノ酸であってもよい。
- 3) C 末端アミノ酸の α 位のアミノ基がペプチド結合をし、カルボキシル基は遊離である。

種々の化合物の添加効果：p-CMB, 燐酸塩, o -フェナントロリンおよび尿素は阻害し、DFP, クエン酸および EDTA は添加効果を示さなかった。

Cd, Cu, Zn および Hg は阻害した。 o -フェナントロリンに対する透析で活性は低下したが、Ca の添加によりほぼ透析前の活性に復した。

オルニチン>リシン>アルギニンの順序で阻害効果のみとめた。

酵素活性の体内分布：ラットでは骨格筋、心筋、腎および精巣の順に活性が強く、脳をふくめ他の臓器にも活性を認めた。

〔総括〕

牛脳より H- γ Abu-Lys-OH を単離した。従来 γ -アミノ酪酸のペプチドとしてホモカルノシンとホモアンセリンが知られているが、いずれもカルノシナーゼで水解される。H- γ Abu-Lys-OH はカルノシナーゼでは水解されずここに報告した酵素によって水解された。

基質特異性、体内分布、熱処理および種々の化合物の添加効果より、本酵素は未報告のペプチダーゼであった。

論文の審査結果の要旨

本論文は、牛脳から N^ε-(γ -アミノブチリル) リジンを単離同定し、さらにその水解酵素を豚の腎より精製しその性質を討検した結果未報告のカルボキシペプチダーゼであることを証明したものである。将来、このペプチドは、脳機能との関連において興味があり、また報告されたペプチダーゼも、生体内での意義についてその今後の研究に、端緒を与えるものとして学位論文に値するものとする。