



Title	N-アシルアミノ酸遊離酵素の精製と性質およびその生理的意義についての考察
Author(s)	綱沢, 進
Citation	大阪大学, 1973, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/30813">https://hdl.handle.net/11094/30813</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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</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）	網 沢 進
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 2719 号
学位授与の日付	昭和 48 年 3 月 16 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	<b>N-アシルアミノ酸遊離酵素の精製と性質およびその生理的意義についての考察</b>
論文審査委員	(主査) 教授 成田 耕造 (副査) 教授 倉橋 潔 教授 松島 祥夫 教授 芝 哲夫

### 論 文 内 容 の 要 旨

タバコモザイクウイルス蛋白質のN末端アミノ酸がアセチル化されているということが成田によって発見されて以来、有核細胞系生物においてその細胞質中にN末端にアセチル基を有する蛋白質が、かなりの数にわたって知られてきた。このN末端アセチル基に関して、成田は、それが有核細胞系において蛋白質合成の開始基として働くという仮説を提唱した。そしてまた末端アセチル基は大多数の蛋白質においてはそれらの合成中にまたは合成後に酵素的に除去されると考えた。ところが、その後無核細胞系においてF-Met-tRNAが開始基となることが示された。しかし、有核細胞系での蛋白質合成の開始の機構は依然不明のままであった。そして最近、ウサギ網状赤血球をはじめとする幾つかの有核細胞系でMet-tRNA<sup>f</sup>が開始基となるという報告がなされてきた。しかし一方では、Ac-Gly-tRNAやAc-Ser-tRNAが開始基となるという報告もなされた。この時点において先の仮説を実証すべく試みられた一連の研究の一端として本研究をおこなった。本研究は、先述した様な脱アセチル化酵素をN末端がアセチル化されていない蛋白質である血清アルブミンを主として生産している白ネズミ肝臓細胞を用いて探索することにより始められた。この際、基質としては、リボソーム上を伸長するペプチドを想定して一例としてAc-Met-Thrを用いた。この結果、その様な酵素が105,000g上清分画に存在することが確認された。そこで諸組織におけるこのデアセチラーゼ活性酵素の存在を検討した。この結果、蛋白質合成の盛んな組織にはこの活性が強く見られた。これは先の仮説を充分支持するものと思われた。そこで更に白ネズミ肝臓およびブタ肝臓より本酵素を精製することを試みた。この結果、ディスク電気泳動的にほぼ単一と思われる標品が得られた。次に本酵素のN-アセチルペプチドに対する基質特異性を検討した。この結果、本酵素は、N-アシルアミノ酸遊離酵素であると推定された。更に幾つかの蛋白質基質に対しても、若干の問題はあるが、同様な作用を示すことが推測された。次に本酵素の性質について検討した。本酵素は至適pH 7.2~7.6、等

電点約4.24でDFP、重金属イオンおよびPCMB等のSH阻害剤で完全に活性を阻害されることがわかった。また本酵素の構造については、分子量約360,000を持ち、約75,000の同一なサブユニット5～6個から本酵素が成り立っていることがわかった。またこのサブユニットは、N末端にグリシン、C末端にセリンを有する一本のポリペプチド鎖であること、またその中に一つのSH基を有することが推定された。また本酵素の構成アミノ酸の分析をおこなった。最後に、先の仮説と関連づけて本酵素の生理的意義を考察した。

## 論文の審査結果の要旨

タバコモザイクウイルス蛋白質の末端アミノ基がアセチル化されていることが1957年に発見されて以来、動植物起源の末端アセチル化蛋白質の数は急激に増加している。この末端アセチル基の生理的意義究明の試みとして、成田は1962年にアセチルアミノ酸が生体内における蛋白合成の開始に関与するという仮説を提唱し、アセチルアミノ酸が起点となって、これに順次アミノ酸がカルボキシル基側へ付加して蛋白質が合成されると考えた。もしこの仮説が事実とすれば、すべての蛋白質の末端アミノ基はアセチル化されていなければならない筈であるが、これは事実と反する。そこで、末端アミノ基が遊離の蛋白質には、脱アセチル化酵素が細胞内で作用し、アミノ基遊離の蛋白質が合成されているものと成田は考えた。

綱沢君は果してこのような酵素が存在するか否かを検討した。アミノ基遊離の蛋白質である血清アルブミンを合成する肝臓からこの酵素の検出に着手し、ラット肝臓のホモジネート中にAc-Met-Thrに作用してアセチルメチオニンとスレオニンに分解する酵素の存在を確かめ、この酵素の精製を行ない、約1500倍の活性のほぼ均一状態まで精製した。この精製酵素に種々な合成基質を働かせて、アシルペプチドからアシルアミノ酸を遊離させること、アシルアミノ酸には作用しないこと、また末端に遊離アミノ基をもつ蛋白質には作用しないが、化学的にこれをアセチル化すると、末部からアセチルアミノ酸を遊離させることなどを明らかにした。

この酵素の分子量は約360,000で、恐らく同一構造のポリペプチド鎖5～6個から構成されている会合体で、その等電点はpH 4.3であること、DFPやPCMBで完全に阻害されるが、 $Hg^{2+}$ や $Cu^{2+}$ 以外の重金属イオンでは阻害されないことなどを見出した。さらにこの酵素のアミノ酸組成、アミノおよびカルボキシル両末端基の決定を行なった。

今回綱沢君が初めて見出したこの酵素は、細胞内では、可溶画分に存在し、また蛋白合成の盛んな臓器程、この酵素活性が高いことを明らかにした。この酵素の生体内における真の生理的意義は明らかではないけれども、前述の作業仮説を支持するものと推論した。

以上の綱沢君の研究は、新しい酵素の分離、精製、さらにその化学的性質をある程度明らかにし、生理的意義を考察したもので、理学博士の学位論文として価値あるものと判定した。