



Title	フラビン酵素における電子伝達と酸素化反応の作用機 作について
Author(s)	山崎, 政城
Citation	大阪大学, 1973, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/31011
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、大阪大学の博士論文につい てをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	やま	さき	まさ	き
	山	崎	政	城
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	2862	号	
学位授与の日付	昭和48年6月5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	フラビン酵素における電子伝達と酸素化反応の作用機作について			
論文審査委員	(主査)			
	教授	山野	俊雄	
	(副査)			
	教授	中馬	一郎	教授 和田 博

論文内容の要旨

〔目的〕

フラビン酵素は、電子伝達、オキシダーゼ反応、オキシゲナーゼ反応などの作用多様性を有する。これら諸反応はフラビンと蛋白の複雑な相互作用にもとづくが、フラビンの酸化還元分子および電子レベルの考察なくしては解明できないと思われる。このような観点に立って研究を進めようとした。

〔方法ならびに成績〕

生理的フラビン中間体の水素転移を含む電子伝達の機構は非常に複雑で、いまだ不明な点が多い。著者はフラビン酵素の flavin ring 共役系への水素アニオンを含めた水素転移反応の機構を解明するため、Lithium tetrakis-(N-dihydropyridyl)-aluminate(Tetrakis)、Lithium tri-t-butoxy-aluminumhydride(TBAH)などの有機錯金属水素化物を用いて、flavin ringの水素アニオンに対する反応性を検討した。

この結果、嫌氣的条件下、lumiflavinおよびN(3)-methyllumiflavinとTBAHとの反応において、赤外線吸収スペクトルより4位carbonyl groupにもとづく 1725cm^{-1} の吸収が消失しenol化が、紫外可視部吸収スペクトルより395nmにradical chelateに起因する吸収と370nm付近を中心とした特異的な吸収が、またESRスペクトルよりfree radicalの微細構造が認められた。

また、NADHおよびNADPHに非常に類似しているTetrakisとの反応系においても、TBAHとの系と同様な反応機構が認められ、水素アニオンによる5位窒素原子を中心とする電子伝達の機構が明らかにされた。

このような系をフラビン酵素の系に拡大するならば、flavin ring 4位 Carbonyl groupがアポ酵素とinteractionを持たない系ではNADH dehydrogenaseで代表されるように基質のnucleophilic attackは4a位へおこるが、アポ酵素と何らかのinteractionを持つ系ではMesomeric effectがIndu-

ctive effectに優先するため、基質または水素分子のnucleophilic attackは5位窒素原子へおこり、その際のelectron transferはelectronづつのstepwise reactionであることが結論づけられる。

次に、還元型フラビンおよび中間型フラビンと酸素との反応が問題になってくる。生体内で、酸化還元系の触媒作用を有するフラビン酵素の酸化型、還元型および種々の中間型の相互変換はflavin ringの1, 1a, 4a, 5位を中心に行なわれている。これらの変換は酸素代謝という重要な生理的意義をもつが、還元型フラビンおよび中間型フラビンへ分子状酸素が結合し、代謝されていく過程やその間におけるフラビンの可能な中間体については仮設の域を出ていない。

著者は、分子状酸素のfully reduced flavin ringへのとり込みだけでなく、half reduced flavin ringへのとり込みの可能性をも考慮し、D-アミノ酸酸化酵素を含む種々の還元型フラビンと一重項状態の酸素(first excited state, $^1\Delta g$)との反応を試み、酸素代謝機構を探る上での重要な代謝中間体であるoxygenated flavinの存在を見つけるに至った。

すなわち、嫌氣的条件下EDTAの存在のもとに光照射により得られるnormal reduced flavinでは $^1\Delta g$ との反応で直ちに酸化型を生じ、oxygenated flavinの生成は認められない。しかし、flavin ring 5位窒素原子をbenzyl化したようなstable reduced flavinではD-アミノ酸酸化酵素(phosphate buffer, pH6.4)、FAD, RiboflavinおよびN(3)-methyllumi-flavin(以上水溶液、pH 6.4)などいずれの場合でも、嫌氣的条件下種々の求核試薬($^-\text{SCH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$, ^-OR , $^-\text{N}_3$)の存在のもとに $^1\Delta g$ と反応し、紫外可視部吸収スペクトルよりflavin ring systemに酸素分子が直接くみ入れられたoxygenated formに起因する吸収が500~680nmおよび375nmに認められた。

このものの最も簡単なN(3)-methyllumiflavinの系に例をとれば、分子状酸素がflavin ring system 1a位、cysteineなどのnucleophilic attack reagentsが4a位にくみ込まれていることが高分解能質量スペクトルより結論づけられ、このように生理的に重要な意義をもつ oxygenated flavinを単離、同定することに成功した。

また、 $^1\Delta g$ との反応機構より oxygenated flavinの conformationは分子状酸素がadenine ring sideより、substrateはそれと反対の方向から approachするものと考えられる。

〔総括〕

- ① flavin ring 5位窒素原子を中心とした電子伝達の機構を明らかにし、フラビン酵素本来の反応と比較検討した。
- ② 酸素代謝機構を探る上での重要な代謝中間体である oxygenated flavinを単離、同定することに成功し、これらの分光学的データをもとに、いろいろな生理的フラビン中間体の同定および反応性などの研究に寄与した。

論文の審査結果の要旨

フラビン酵素は、電子伝達、オキシターゼ反応、オキシゲナーゼ反応などの作用多様性を有する。これらの諸反応はフラビンとアポたんぱくとの複雑な相互作用に基くが、フラビンの酸化還元分子

および電子レベルの考察なくしては、解明できない。著者は、種々の系統的還元剤を用いて水素添加の状況をしらべ、4位カルボニールグループとアポ酵素との相互作用のない場合は、4a位に求核的に反応がおこり、相互作用のある場合は、メゾメリー効果をともなう5位N原子にI電子転移がstepwiseにおこる説を提唱した。さらに還元フラビンの酸素化型を単離同定し1a位に酸素が付加することを実証した。

これらの成績は、フラビンの作用多様性の機作解明に寄与するところが大きいと考えられる。