



Title	ルミフラビンによる光増感酸素化反応に対するアデニンの促進効果
Author(s)	吉村, 彰雄
Citation	大阪大学, 1973, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/31108
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

[7]

氏名・(本籍)	よし 吉	むら 村	あき 彰	お 雄
学位の種類	理	学	博	士
学位記番号	第	2870	号	
学位授与の日付	昭和48年6月15日			
学位授与の要件	理学研究科無機及び物理化学専攻			
	学位規則第5条第1項該当			
学位論文題目	ルミフラビンによる光増感酸化反応に対するアデニンの促進効果			
論文審査委員	(主査) 教授	加藤	俊二	
	(副査) 教授	京極	好正	教授 桑田 敬治

論文内容の要旨

上原ら(阪大薬)により、酵素やDNAが好氣的条件下で、リボフラビンの光増感作用で失活する際アデニン添加による顕著な促進効果が見出された。ところで、トリプトファン等の極希薄溶液におけるフラビン増感光酸化反応に対しても、同様な効果があることを見出したので、この現象の機構を光化学反応論的立場から研究することを目的とした。

色素としては、リボフラビンの反応性に富むリピチル基をメチル基で置換した、ルミフラビンを用いた。定常光照射実験は、恒温槽中の、角型枝付きセル中で行い、436nmの単色光を反応励起光として用いた。反応速度は、基質の極希薄濃度を知る必要から、インドール類、チロシンについてはケイ光法で、¹⁴Cで標識した基質については、クロマト分離後、放射能測定で追跡して求めた。光吸収量(光量計として、シュウ酸鉄を用いた)及び、反応初速度から、反応量子収量を決定した。又、閃光法により、中間体の吸収スペクトル及び、減衰を測定した。実験は通常、0.05Mリン酸緩衝液(pH7.2)中、30℃で行った。

代表的基質として、トリプトファンを用いた実験から、アデニンの促進効果は、トリプトファンが高濃度のときはあまり認められないが、 10^{-5} M以下で顕著にあらわれることがわかった。このアデニンの効果は、基質として、インドール酢酸・セロトニン・チロシン・ヒスチジン・メチオニン・グアニン等を用いたとき、その希薄溶液に対していずれにも認められるが、色素として、リボフラビン・ルミフラビン・FAD等のフラビン色素を用いたときに限られ、ローズベンガル・メチレンブルー・チオピロニン・ルミクロム等の色素を増感剤としたときは、認められなかった。この色素選択性から、最近注目されている一重項酸素が寄与するものでないことは明らかである。フラビン-アデニンの会合が知られているが、その会合定数は約1001/molで、実際アデニンが0.2mM存在するときでも、ケイ光消光は約2%で、フラビンの2%が会合しているにすぎない。一方、反応量子収量の増加分は、は

るかに大きいので、アデニンの効果は、静的な会合体によるものでも、励起一重項状態に対する効果によるものでもない。

溶存酸素濃度を変えて行った反応から、酸素は、低濃度 (10^{-5}M) で、基質としての作用が飽和に達し、高濃度では、トリプトファンの酸素化反応量子収量は減少する事が判った。そしてアデニンはこの阻害作用をうち消すように働いている。ヨウ素イオンを三重項失活剤として添加したとき、その阻害作用は酸素及びトリプトファンと拮抗的であるが、アデニン濃度には依存しないことから、アデニンが作用するのは、三重項ルミフラビンが、まず酸素と作用した後での、別の状態であるといえる。 ^{14}C で標識したトリプトファン等の基質を用いたときの反応生成物のクロマトグラムから、アデニンのあるときとないときで、生成物の違いはないことがわかった。

閃光照射実験から、アデニン及び、酸素存在下で、ルミフラビンを照射したとき現われる比較的長寿命の中間体は、フラビンセミキノン構造を持つことがわかった (フラビンセミキノンが反応中間体であることは、pHを変えて定常光照射反応を行ったときの結果とも一致する)。又、アデニン・酸素及び、ヨウ素イオンの濃度を変えたときの、閃光によるこの中間体の生成量及び、減衰速度から、定常光照射実験からの反応機作が裏付けられた。アデニン存在下の、ルミフラビンによる光増感酸素化反応の中間体は、(アデニン $^{+}$...ルミフラビン $^{-}$...酸素) と結論された。

論文の審査結果の要旨

フォトダイナミックエフェクトは光化学反応論の立場からも興味のある現象である。フラビン色素の光増感作用によって酵素などが失活される反応もその一例であるが、上原等はこの反応に対してアデニンが顕著な促進作用を示すことを見出した。

吉村君はこの複雑な系の反応機構を、速度論の手法を駆使して解明した。まず、トリプトファンの増感光酸素化が、色素としてフラビン色素を用いたときにだけアデニンにより著しく促進されることを確認し、この反応が一重項酸素の関与したものではないことを明らかにした。また、酸素が反応の基質として働らくばかりではなく、著しい失活作用をも示すことを見出した。さらに、反応速度に及ぼす、酸素・トリプトファン・アデニンの濃度効果や、ヨウ化カリウムの失活作用などを綿密に調べるにより、この反応では、まず励起された色素と酸素との間で錯合体を生じ、これにアデニンが作用することによって、酸素による失活を受けることなく、光酸素化作用をトリプトファンに伝えるという反応機構を提出した。

さらに、閃光法を用いて反応中間体のスペクトルおよびその挙動を検討することにより、(A $^{+}$...D $^{-}$...O $_2$) なる錯体 (ここで、Aはアデニン、Dはフラビンを示す) の生成を立証し、さきに提出した反応機構をより確実なものとした。

以上述べたように、本論文は、重要な生体物質を含む系における光化学的酸化反応の機構について重要な新知見を与えたものであって、理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。