OUKA
Osaka University Knowledge Archive

Title	単量体－二量体平衡状態にあるD-アミノ酸酸化酵素と低分子との相互作用
Author(s)	堀池, 喜八郎
Citation	大阪大学, 1977, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/31788
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【31】

氏名・(本籍)	堀池喜八郎
学位の種類	医学博士
学位記番号	第3843号
学位授与の日付	昭和52年3月18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	**単量体—二量体平衡状態にあるD-アミノ酸酸化酵素と低分子との相互作用**
論文審査委員	(主査) 教授 山野 俊雄 (副査) 教授 天野 恒久　教授 中馬 一郎

論文内容の要旨

〔目　的〕

D—アミノ酸酸化酵素の単量体，二量体と拮抗阻害剤，生成物，プロトンなど低分子との相互作用をしらべ，本酵素の単量体—二量体平衡状態をくわしく解析し，低分子との相互作用を含めた酵素蛋白質の解離会合やサブユニット間相互作用など蛋白質相互作用系の本酵素の機能と構造さらには生理作用について占める役割の重要性を追求する。

〔方法ならびに成績〕

ブタ腎皮質よりD—アミノ酸酸化酵素を精製した。本酵素の単量体と種々の拮抗阻害剤との解離定数（Kim）は酸素電極法により反応動力学的に求めた。また，本酵素の二量体を拮抗阻害剤によって分光学的に滴定し，二量体の二つの活性部位間の協同性を調べ，かつ，解離定数（Ki）を求めた。さらにKim，Kiの値のpH依存性について調べた。これらの結果を熱力学的に取り扱い，単量体，二量体に対するこれら化合物の親和性の相違およびそのpH依存性，二量体の二つの活性部位間の相互作用，および単量体—二量体平衡系に対するこれら化合物の影響を調べ，本酵素の単量体—二量体平衡系を詳しく解析した。得られた結果は次のようになった。

1）　pH 6.5～10で，拮抗阻害剤や生成物であるα—ケト酸の二量体に対する最大結合数は二個であり，二量体の二つの活性部位の間には相互作用はない。すなわち協同性はない。また，これらリガンドの二量体に対する親和性は単量体に対するよりも数倍高く，それゆえ，これらリガンドはD—アミノ酸酸化酵素の平衡状態において二量体化をひきおこす。つまり，平衡は二量体側にずれる。この際，二量体のサブユニット間相互作用エネルギーは，リガンドの存在しない時に比べて，1～2

kcal /mole 安定化され，この値はほぼpHに依存しない。

2） 見かけの二量体化定数は，リガンドの濃度が増加するにつれてS字状に増大する。

3） 二量体において，活性部位と二量体の二つのサブユニット間の結合部位とは異なる。

4） 単量体，二量体中には，拮抗阻害剤の結合に関与する解離基が存在し，そのpH値は単量体，2量体でほぼ同じで 8.7であった。また，酵素一拮抗阻害剤複合体のpKは pK 6.5～10の範囲には観察されなかった。

5） 二量体において，拮抗阻害剤の結合に関与する二つの解離基は，そのプロトン化，脱プロトン化反応について相互作用せず独立している。

6） 酵素への安息香酸誘導体の結合において，極性効果のみならず共鳴効果もまた重要な役割を演じているものと思われる。

〔総 括〕

本酵素の二量体の二つの活性部の間にはリガンドの結合について相互作用はないが，実験に用いた種々のリガンドは，単量体よりも二量体に対して高い親和性を示した。この親和性の差によって，本酵素の平衡系において二量体化がおこる。

また，今回の実験は酵素一基質複合体や酵素一生成物複合体のモデルとなりうるものであり，代謝制禦においてサブユニットの解離会合によるものも重要であろう。

本酵素には高分子一高分子間相互作用としてサブユニットの解離会合があり，高分子一低分子間相互作用として酵素蛋白質と基質，生成物，拮抗阻害剤，補酵素，イオンなどとの相互作用がある。したがって，蛋白質相互作用系の研究に本酵素は一つのよい材料，モデルを提供するものであると思われる。

論文の審査結果の要旨

D－アミノ酸酸化酵素には単量体，二量体の存在が知られているが，著者はそれらに対する拮抗阻害剤，生成物，プロトンなどの低分子の結合をしらべている。その結果によれば，二量体の二つの活性部位の間にはリガンド結合について相互作用はないが，用いたリガンドは単量体よりも2量体に対して高い親和性を示した。この親和性の差によって平衡系は，二量体化に傾く，二量体のサブユット間相互作用エネルギーはリガンドの存在しない時に比べて存在する場合は1～2 Kcal /mole安定化される。単量体の酵素比活性と二量体の酵素比活性の間に差があることが知られているので，存在する基質類似物質，生成物の濃度によって上記平衡系がずれることは同時に酵素比活性が変化することを意味する。このような現象の発見は代謝調節における酵素比活性の変化についての有用な知見を与えるものであり，高く評価できる。