The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Sーアデノシルホモシステイナーゼの活性中心残基に関する研究
Author(s)	五味, 知治
Citation	大阪大学, 1983, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33931
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

【2】

氏名・（本籍）	五味知治（ごみともはる）
学位の種類	理学博士
学位記番号	第 6176 号
学位授与の日付	昭和58年9月28日
学位授与の要件	理学研究科 生物化学専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**S－アデノシルホモシステイナーゼの活性中心残基に関する研究**
論文審査委員	（主査） 教授 中川 八郎 （副査） 教授 藤井 節郎　教授 堀尾 武一

論文内容の要旨

S－アデノシルホモシステイナーゼ（SAHase）は，S－アデノシルホモシステイン（SAH）の，アデノシン（Ado）及びホモシステインへの可逆的加水分解反応を触媒する。本酵素反応の反応中間物質等については詳細な研究がなされているが，触媒作用や基質結合に関与するアミノ酸残基に関する情報は少ない。これらの点を明らかにする目的で，ラット肝臓の酵素を材料とし，化学修飾法及び分光学的方法により解析した。

SAHaseをヒスチジンに特異的な試薬であるジエチル・ピロカーボネートと反応させると酵素活性は完全に消失した。分光学的並びに放射性試薬を用いて検討した結果，サブユニット当り1分子のヒスチジン残基の修飾により完全失活することが明らかとなった。修飾酵素はoverall反応を触媒しないにもかかわらず，基質Adoの3′－位の酸化及び4′－位プロトンの脱離を触媒する能力を保持している。このことから，必須ヒスチジン残基は3′－ケトカルバニオンからの水或はホモシステインの脱離反応に，酸・塩基触媒として関与することが示唆される。

SAHaseとヨードアセトアミドの反応によって，サブユニット当り3分子のシステイン残基が修飾される，実験条件下（pH 9）では他の残基の修飾は起らなかった。3分子の修飾可能残基のうち，2分子が活性に必須であり，いずれか一方の修飾により活性は完全に失なわれる。修飾酵素はAdoの3′－位の酸化を触媒するが，4′－位プロトンの脱離を触媒しない。システイン残基が酸・塩基触媒として直接プロトンの脱離に関与する可能性は考えにくいので，修飾による立体障害または高次構造の変化により，近傍に存在して実際に酸・塩基触媒として働く残基の機能が失われるものと考えられる。

SAHaseと基質との相互作用により吸収スペクトルの変化が起るが，Adoは酵素に結合すると部分反

応を受けるため，結合そのものに関する知見を得るには不適当である。そこで，酵素に結合はするが，反応は受けない物質としてアデニン，及び3′－デオキシアデノシンを用いて解析した。これらの物質と酵素の相互作用によって得られる差スペクトルは，化合物に有機溶媒を添加することによって近似できた。したがって，Ado及びSAHの酵素への結合は主として疎水結合によるものと考えられる。260ｎｍの浅色効果等から酵素トリプトファン残基と基質のプリン環との相互作用が示唆される。

論文審査の結果の要旨

Ｓ－アデノシルホモシステイナーゼはメチオニン－システイン代謝径路上の律速酵素であり，かつ，メチル転位反応にも関与する重要な酵素であるにかかわらず，動物種の酵素については十分研究がなされていない。

本研究はラット肝の酵素が同一のサブユニットからなる４量体であり、各サブユニットに１分子の補酵素NADを結合していることを明らかにした上で，基質であるアデノシンおよびアデノシルホモシステインのアデノシン部分と酵素の活性部位との反応機構を化学修飾法を用いて解析をおこない，１）基質の１つであるアデノシンによって酵素に結合するNADが還元を受ける。２）ヒスチジン残基がNADによる基質の酸化物，3′－ケトーカルバニオンからのホモシステインへの転換に酸・塩基触媒として関与する。３）サブユニットに存在する２分子のシステイン残基がアデノシン部分の4′位プロトン離脱に関与する。４）酵素と基質との反応は疎水性結合であり，トリプトファンが関与する等を明かにした。

本研究の結果は有機化学的に困難なチオエーテルの加水分解反応の酵素による触媒機構の１端を明かにしたこと，そのことにより，本酵素活性の調節機構の解析を可能にした。よって，本論文は理学博士の学位論文として十分価値あるものと認められる。