



| | |
|--------------|---|
| Title | NADHの保存中に形成される2種類のNADH脱水素酵素阻害物質の単離と性質 |
| Author(s) | 山内, 憲一 |
| Citation | 大阪大学, 1986, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/35514 |
| 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) | 山 | 内 | 惇 | 一 |
| 学位の種類 | 理 | 学 | 博 | 士 |
| 学位記番号 | 第 | 7451 | | 号 |
| 学位授与の日付 | 昭和61年10月3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 | NADHの保存中に形成される2種類のNADH脱水素酵素阻害物質の単離と性質 | | | |
| 論文審査委員 | (主査) 教授 堀尾 武一 | | | |
| | (副査) 教授 佐藤 了 教授 松原 央 | | | |

論文内容の要旨

NADは酸化還元酵素の補酵素として生体内で重要な機能を果たしている。しかも、NADは酸化あるいは還元によって340nmの吸光度が定量的に減少あるいは増加するため、いろいろな酵素反応速度の測定や各種基質濃度の測定に広く用いられている。しかしながら、NADHを用いる酵素反応速度測定において、NADH標品中に存在する阻害物質のために、酵素反応速度の解析が困難となるという問題点があった。そこで、アルカリ性のpHでNADH溶液を保存し、3種類の阻害物質(I-1, I-2, I-3)を強制的に生成させた。このうち、I-1とI-2をそれぞれ精製したのち、それらの性質と構造について検討した。

I-1の吸収スペクトルは345nmと260nmに吸収極大をもち、NADHに似ていること、I-1は、NADH脱水素酵素(NAD関与の脱水素酵素)によって酸化されないが、フェナジンメトサルフェイト(PMS)によって酸化されてNADになること、I-1の分子量はNADHに酷似すること、及びNMRとIRによる分析によって、I-1は1,6-ジヒドロニコチニアミドアデニンヌクレオチドであると推論した。I-1はAサイドのNADH脱水素酵素及びソルビトール脱水素酵素(サイド不明)を阻害し、Bサイドの脱水素酵素を阻害しなかった。

I-2は還元状態では、338nmと260nmに吸収極大をもち、NADHに似ている。I-2はグルタミン酸脱水素酵素によって約50%酸化され、また、PMSによって完全に酸化される。したがって、I-2には2種類の異なる酸化還元サイトが存在する。I-2の分子量はNADHの約2倍であった。これらに加えて、NMRとIRによる分析によって、I-2の化学構造は、NADHのニコチニアミドの6の炭素とI-1のニコチニアミドの2位の炭素が結合した二量体であると推論した。I-2は乳酸脱水

素酵素を特に強く阻害し、リンゴ酸脱水素酵素を少し阻害する以外には、他のNADH脱水素酵素には殆ど影響しなかった。

乳酸脱水素酵素アイソエンザイムに対する阻害では、I-1は4Mよりも4Hを強く阻害したが、I-2は両者と同じように阻害した。

I-1はAタイプの脱水素酵素に対して拮抗阻害を示し、I-2は乳酸脱水素酵素に対しては混合阻害を、リンゴ酸脱水素酵素に対しては拮抗阻害を示した。

I-1、I-2共にアルカリ性のpHでは阻害活性は安定であるが酸性のpHでは阻害活性は急速に失われた。

論文の審査結果の要旨

NAD(H)は、多種多様な酸化還元酵素の補酵素として、生体内で利用されている。一方、このNAD(H)を用いる酵素反応は、種々の酵素や生体物質の迅速でしかも精度の高い定量法として、臨床検査領域を含む広い分野で、ひんぱんに応用されている。けれども、上記の酵素反応を用いる分析方法においては、NADH標品に混在する微量のNADH脱水素酵素阻害物質によって、しばしば分析精度が低下することが知られており、重要な問題となっていた。

本研究において、山内惇一君は、NADHの保存中に、3種類の阻害物質が生成することを見出すとともに、それらの生成条件を明らかにした。更に、それら3種類のうち、2種類の阻害物質（I-1およびI-2）を単離することに成功し、それらの種々のNADH脱水素酵素反応に対する阻害作用を明らかにするとともに、化学構造を推定した。

本研究の成果は、NADH試薬の使用に関して、また、種々のNADH脱水素酵素の反応機構に関して、重要な知見を与えるものである。したがって、本論文は理学博士の学位論文として十分に価値あるものと認める。