

| | |
|---------|---|
| 氏 名 | 岡 本 宏 おか もと ひろし |
| 学位の種類 | 医 学 博 士 |
| 学位記番号 | 医 博 第 383 号 |
| 学位授与の日付 | 昭 和 44 年 3 月 24 日 |
| 学位授与の要件 | 学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当 |
| 研究科・専攻 | 医 学 研 究 科 生 理 系 専 攻 |
| 学位論文題目 | SOLUBILIZATION AND PARTIAL PURIFICATION OF KYNURENINE HYDROXYLASE FROM MITOCH- ONDRIAL OUTER MEMBRANE AND ITS ELECTRON DONORS (ミトコンドリア外膜よりキヌレニン水酸化酵素の可溶化と部分精 製及びその電子供与体について) (主 査) 教 授 早 石 修 教 授 岡 本 耕 造 教 授 沼 正 作 |
| 論文調査委員 | |

論 文 内 容 の 要 旨

キヌレニン水酸化酵素はL-キヌレニンの“3”の位置に一原子の酸素を添加する反応を触媒する。この酵素はトリプトファンからの NAD 生成過程において重要な役割を演じているにもかかわらず、精製が困難なために、その助酵素や性質についての詳細は不明であった。最近、著者らにより本酵素がラット肝細胞内で特異的にミトコンドリア外膜に局在していることが見い出され、さらに、このミトコンドリア外膜画分を酸性硫酸処理することによって本酵素活性の出現にフラビンアデニンジヌクレオチドが必須であることが明らかにされた。このように、生理的意義の明確な酵素がミトコンドリア外膜に局在している事は、ミトコンドリア外膜の生理機能を考える上に重要な知見であり、また、細胞内での新しい水酸化（一原子酸素添加）機構として注目を集めている。

本論文において著者は、ラット肝臓ミトコンドリア外膜よりキヌレニン水酸化酵素を可溶化し、部分精製することにより、本酵素の電子伝達系に関して従来の学説とは異なる新知見を得、さらにミトコンドリア内において外膜に存在するキヌレニン水酸化酵素と内膜の呼吸酵素系とが電子供与体に関して互いに拮抗的關係にあるということを証明した。

まず、ミトコンドリア外膜画分を1.5%ジギトニン存在下で音波破碎処理をほどこすことによりミトコンドリア外膜よりキヌレニン水酸化酵素は可溶化される。この可溶化された画分を硫酸分画することにより本酵素は約3.4倍精製され、その酵素標品はチトクロム b_5 をほとんど含んでいなかった。この部分精製された酵素標品は酵素反応に必要な電子供与体として、これまで示さたいた NADPH だけでなく β -NADH も有効であり、 K_m は NADPH に対して $1.1 \times 10^{-5} M$, β -NADH に対して $1.4 \times 10^{-5} M$ であった。このように、部分精製した酵素標品を用いた場合は β -NADH はキヌレニン水酸化反応の電子供与体となり得るが、ミトコンドリアを酵素源とした場合は β -NADH は電子供与体となり得なかった。ところが、ミトコンドリアを酵素源とし、 β -NADH を電子供与体として用いた場合でも、ミトコンドリア内膜系の呼吸膜素活性をロテノン、アンチマイシンA、シアン等で阻害していくことにより対照的にキヌ

レニン水酸化酵素活性の出現が認められてきた。

以上の実験結果から一つは、キヌレニン水酸化反応にはチトクロム b_5 は関与していないことを示し、近年、臆測されていたチトクロム b_5 の関与は否定されたわけである。次に、これまで、一般に哺乳動物の水酸化酵素（一原子酸素添加酵素）の電子供与体として NADPH のみが有効であると考えられていたが、本論文の結果は、ある条件下では β -NADH も十分その電子供与体となり得るということを示したものである。さらに、従来、ミトコンドリア外膜の存在については形態学的に証明されていたが、その生理的意義については全く不明であった。本論文はミトコンドリアの外膜と内膜とが機能的に関係し合っていることを示唆した最初の報告であり、今後ミトコンドリア外膜の生理機能を理解する手懸りとなるものと思われる。

論文審査の結果の要旨

キヌレニン水酸化酵素はキヌレニンから 3-オキシキヌレニンを生成する一原子酸素添加酵素である。本酵素はトリプトファンから NAD の生合成過程において重要な役割を演じているのにもかかわらず従来精製が困難であるため詳細については不明であった。著者は先に本酵素がネズミの肝臓ミトコンドリアの外膜に局在することを証明したが、本論文では外膜画分を 1.5% ジキトニン存在下で音波破碎処理し、可溶化することに成功した。この可溶化された画分を硫酸で部分精製した標品はチトクロム b_5 をほとんど含んでいない。本標品を用いて電子供与体の特異性、ロテノン、アンチマイシンA、シアン等の阻害剤の影響を検討した結果、近年憶測されていたチトクロム b_5 の関与を完全に否定し、NADH 又は NADPH を電子供与体とするフラビン酵素であることを確証した。

本論文はミトコンドリアの外膜に特有の酵素であるキヌレニン水酸化酵素の性質を明らかにし、かつミトコンドリアの外膜と内膜の機能的関連についても新しい知見を報告しているものであり、学術上有益にして医学博士の学位論文として価値あるものと認定する。