

氏 名	稲垣千代子 <small>いながきちよこ</small>
学位の種類	医学博士
学位記番号	論医博第710号
学位授与の日付	昭和52年11月24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	Characteristics of Enzymic Decarboxylation of L-threo-3, 4-Dihydroxyphenylserine Using Hog Renal L-Aromatic Amino Acid Decarboxylase (ブタ腎臓芳香族アミノ酸脱炭酸酵素による L-threo-3, 4-dihydroxy phenylserine 脱炭酸の特徴)
論文調査委員	(主査) 教授 藤原元始 教授 沼正作 教授 高折修二

論 文 内 容 の 要 旨

Dihydroxyphenylserine には、4つの異性体、つまり L-threo, D-threo, L-erythro および D-erythro-Dihydroxyphenylserine (DOPS) がある。これら4立体異性体のうち、L-threo-DOPS は、脱炭酸を受け、l-Norepinephrine (l-NE) を生じる。本研究では、生体活性アミン前駆体としての L-threo-DOPS の、酵素的脱炭酸の特徴を明らかにしようとした。

(実験方法) 芳香族アミノ酸脱炭酸酵素は、ブタの腎臓より Christenson らの方法によって精製した。脱炭酸反応液 (2ml) の基本組成は Lovenberg による組成を参考にし、反応開始は基質添加により、反応停止は 0.4N HClO₄ 2ml 添加により行った。反応生成物である NE は、Bertler らの方法に従って定量した。

(結果) 1) 脱炭酸反応は threo-DOPS の L-異性体に特異的にみられた。2) L-threoDOPS 脱炭酸の速度は、Pyridoxal phosphate 10 μ M 存在下、37°C, pH8.6 で最大となり、この条件下で Km は 4 \times 10⁻⁴M, Vmax は 2.80nmol NE/mg protein per min であった。3) L-threo DOPS 脱炭酸は、L-dihydroxy phenylalanine (L-DOPA) および L-5-hydroxytryptophan (L-5HTP) により、拮抗的に阻害された。4) threo-DOPS および DOPA の D-異性体 (0.125mM) は、L-threo DOPS 脱炭酸を対照の50%にまで阻害し、D-erythro DOPS も軽度の阻害効果を示したが、D-5HTP (1mM) および D-Tryptophan (1mM) は、いずれも阻害効果を示さなかった。5) D-threo DOPS による L-threo DOPS 脱炭酸反応阻害は、前者の濃度が後者の濃度より低い時、拮抗的であり、後者の濃度が低い時、非拮抗的であった。6) D-異性体による反応阻害は、pyridoxal phosphate 過剰量添加によっても回復しなかった。

(考察) 芳香族アミノ酸脱炭酸酵素の L-threo DOPS に対する親和性は、L-5HTP に対するより低く L-DOPA に対すると同程度であることが明らかになった。また L-threo DOPS 脱炭酸の最大反応速度は、L-5HTP 脱炭酸の場合の約 1/2 であり、従来 racemic threo DOPS を用いて推定された速度比に較べ約 5 倍速い。この実験結果の差は、今回明らかにされた D-異性体の L-threo DOPS 脱炭酸阻

害効果によって説明され得る。

以上の結果は、精製された L-threo DOPS が、racemic threo DOPS に較べ、l-NE のより有効な前駆物質として、生体に作用するであろうことを示唆する。

論文審査の結果の要旨

ジヒドロキシフェニルセリン (DOPS) には 4 つの異性体があり、このうち L-threo DOPS は脱炭酸され l-ノルエピネフリン (NE) を生じる。本研究では生体活性アミン前駆体としての L-threo DOPS の酵素的脱炭酸の特徴を、ブタ腎臓より精製した芳香族アミノ酸脱炭酸酵素を用いて明らかにしようとした。脱炭酸反応は threo-DOPS のうち L 体に特異的にみられ、その速度は磷酸ピリドキシン $10\mu\text{M}$ 存在下、 37°C 、 $\text{pH}8.6$ で最大となり、 K_m は $4 \times 10^{-4} \text{ M}$ 、 V_{max} は $2.80 \text{ n moles NE/mg protein per min}$ であった。L-threo-DOPS の脱炭酸は L-DOPA および L-5HTP により、拮抗的に阻害された。D-threo-DOPS および D-DOPA (いずれも $2.5 \times 10^{-4} \text{ M}$) は L-threo-DOPS の脱炭酸を対照の 50% にまで阻害したが、D-5HTP および D-トリプトファンは阻害効果を示さなかった。この D-threo-DOPS による阻害は、その濃度が L-threo-DOPS より低い時は拮抗的、高い時は非拮抗的であり、また過剰の磷酸ピリドキシン添加によっても回復しなかった。以上の研究は l-threo-DOPS が l-NE の有効な前駆物質として生体に作用することの解明に貢献し、生体活性アミン前駆体の研究に寄与するところが多い。

よって、本論文は医学博士の学位論文として価値あるものと認める。