

氏名	宇城啓至 うしろひろし
学位の種類	医学博士
学位記番号	医博第512号
学位授与の日付	昭和54年1月23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	Tryptophan Side Chain Oxidase from Pseudomonas OXIDATION OF SKATOLE TO INDOLE- 3-CARBOXALDEHYDE VIA INDOLE-3-METHANOL (緑膿菌よりのトリプトファン側鎖酸化酵素 インドール-3-メタノールを経てインドール-3-アルデヒドに至る スカトールの酸化)
論文調査委員	(主査) 教授 佐野晴洋 教授 沼正作 教授 早石修

### 論文内容の要旨

トリプトファン側鎖酸化酵素は最近我々の教室において緑膿菌から単離結晶化されたヘム蛋白質で、トリプトファンやペプチド内トリプトファン残基の他、種々の3位置換インドール化合物の酸化反応を触媒する。L-トリプトファンよりは、脱炭酸、脱アミノを伴って、インドールグリオキサール或いはインドールグリコールアルデヒドを反応産物として生じ、アセチル-L-トリプトファンアミドよりはアセチル- $\alpha$ ,  $\beta$ -ジデヒドロトリプトファンアミドを生ずる。著者はこのように複雑な本酵素反応の基本的性質を明らかにするため構造の単純なスカトールを基質として、その反応を解析した。

本酵素をスカトールに作用させて得られた最終反応産物は、再結晶化後、融点測定、元素分析、質量スペクトル、赤外及び紫外吸収スペクトル、シリカゲル薄層クロマトグラフィーによってインドールアルデヒドと同定された。本反応終結時には、加えた基質スカトールに対して当量のインドールアルデヒドが生成されており、その間、当量の酸素消費を伴った。反応の経時変化を調べると、インドールアルデヒドの生成には lag がみられ、中間産物の生成が示唆された。この中間産物は、シリカゲル薄層クロマトグラフィー、発色反応、及びトリメチルシリル化後の Gas Chromatography-Mass Spectrometry により、インドールメタノールと同定された。インドールメタノールは、本酵素反応初期には、直線的に増加し、後、減少した。反応各時点で、スカトールの減少量はインドールメタノールとインドールアルデヒドの生成量の和に等しく、酸素消費量は前者の生成量 $\frac{1}{2}$ の当量と後者のそのの当量の和に等しかった。一方、インドールメタノールを基質とした場合、 $\frac{1}{2}$ 当量の酸素消費を伴って、当量のインドールアルデヒドの生成がみられた。反応に伴って、本基質の紫外吸収スペクトルは、等吸収点を通して、lag をみることなく、反応産物のそれへと移行し、本反応は中間産物を介さないものと考えられた。以上よりスカトールは、まずインドールメタノールに酸化され、後者が更にインドールアルデヒドに酸化されるものと考えられた。

これら2つの反応を各々分光学的に追跡して初速度解析を行なうと、基質飽和曲線は双曲線型で、pH 6 ではスカトールとインドールメタノールに対する  $K_m$  値は各々  $15.4 \mu M$ 、 $43.5 \mu M$  であった。  $V_{max}$

は2者ほど等しかった。両者は互いに他の酸化を競合阻害し、みかけの  $K_i$  値は、スカトールでは  $16.7 \mu M$ 、インドールメタノールでは  $44.1 \mu M$  と、各々の  $K_m$  値によく一致した。酸素に対するみかけ  $K_m$  の値は、飽和量のスカトールが基質の場合  $50 \mu M$ 、同様にインドールメタノールでは  $55 \mu M$  であった。これらの結果は、単一酵素がこれら2つの酸化反応を触媒することを示す。

両酸化反応は嫌気下においてフェリシアニドの存在下で進行し、スカトールでは4電子当量、インドールメタノールでは2電子当量のフェリシアニドの還元を伴ってインドールアルデヒドを生じた。従って本酵素反応による基質の酸化は脱水素反応によることが明らかとなった。

本酵素は2,3-ジメチルインドールに対してはスカトールの約半分の活性を示したが、スカトールの1-アセチル又は1-メチル誘導体や、インドール、2-メチルインドール等には作用しなかった。

以上の如く本酵素は、インドール3位側鎖メチル基よりヒドロキシメチル基へ、更に後者よりアルデヒド基への2段階の酸化反応を触媒することが明らかとなった。又、本酵素による酸化反応それ自体は、3-インドリルメチル基の部分で進行するものと考えられる。

#### 論文審査の結果の要旨

トリプトファン側鎖酸化酵素は最近、医化学教室において緑膿菌から単離結晶化されたヘム蛋白質で、トリプトファンやペプチド内のトリプトファン残基、種々の3位置換インドール化合物の酸化反応を触媒する。著者は本酵素の反応機構を研究する目的で、もっとも構造の単純な基質スカトールを用い反応を解析した。その結果スカトールはインドールメタノールを中間体としてインドールアルデヒドにまで酸化されることを証明し、これらの中間生成物と最終反応生成物を分離固定した。さらに反応速度論的解析から両者は互いに競合阻害し、同一酵素の同じ活性中心で代謝されること、また両酸化反応はフェリシアニドの存在下で全く嫌氣的に進行することから基質の酸化は酸素添加反応ではなく、脱水素反応であることをあきらかにした。以上の研究はトリプトファン代謝の研究に新分野を開拓し、本酵素の作用機構の解明に寄与するところが大きい。

したがって、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。