

氏 名
学 位 の 種 類
学 位 記 番 号
学位授与の日付
学位授与の要件
研究科・専攻
学位論文題目

藤 原 元 和
ふじ わら もと かず
医 学 博 士
医 博 第 485 号
昭 和 52 年 5 月 23 日
学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
医 学 研 究 科 生 理 系 専 攻

EXTRADIOL CLEAVAGE OF 3-SUBSTITUTED CATECHOLS BY AN INTRADIOL DI-OXYGENASE, PYROCATECHASE, FROM A PSEUDOMONAD

(イントラダイオール型 2 原子酸素添加酵素, 緑膿菌ピロカテカーゼ, による 3 位置換カテコール体のエキストラダイオール型開裂反応について)

論文調査委員

(主査) 教授 沼 正 作 教授 早 石 修 教授 佐 野 晴 洋

論 文 内 容 の 要 旨

カテコール体が 2 原子酸素添加酵素の作用により核開裂を受ける際、2 つの開裂の様式が知られている。すなわち、2 つの水酸基の間で開裂を受けムコン酸誘導体を生ずる場合と水酸基をもった炭素と隣りの炭素間結合が開裂を受け α ヒドロキシムコン酸セミアルデヒド誘導体を生成する場合とがあり、前者は Intradiol 又はオルソ型開裂、後者は Extradiol 又はメタ型開裂と呼ばれている。オルソ型酵素は 3 価鉄を、メタ型酵素は 2 価鉄を唯一の補因子としているため鉄の荷電状態とカテコールの開裂様式との間には特異性があると考えられていた。緑膿菌から分離精製したピロカテカーゼは 3 価鉄を唯一の補因子とする 2 原子酸素添加酵素でカテコールに作用する典型的なオルソ型酵素であるが、3 メチルカテコールを基質に用いた場合、オルソ型開裂の生成物と同時にメタ型開裂を受けたと思われる黄色生成物の生成を認めたので、それが混在するメタ型酵素によるものか、あるいは同一酵素によるものかについて検討するとともに、オルソ型開裂物と黄色生成物の同定を行なった。超遠心、電気泳動的に均一な酵素標品のオルソ型とメタ型の活性比は 17 対 1 であり、数個の単一コロニーから分離した菌はいずれも同一活性比を示した。さらに粗酵素標品からの各精製過程あるいはディスク電気泳動の各分画においても活性比は変化せず、また熱処理、ウレア処理、あるいは H_2O_2 、Cu、SH 阻害剤、鉄キレート剤などによる両活性の失活も平行して起った。一方オルソ型開裂物質はメチルエステルに、メタ型開裂物質はアンモニアと反応させピコリン酸誘導体にした後、マススペクトル、赤外吸収、NMR などを用いて同定をおこない、それぞれオルソ型開裂をうけた 5-カルボキシ-2-メチル-2, 4-ペンタディノイック酸、メタ型開裂をうけた 2-ヒドロキシ 6-オキソ-2, 4-ヘプタディノイック酸、であると同定した。同一酵素が或る基質に対しては 2 つの異なった開裂反応を同時に触媒する可能性が示唆された。従来 2 価鉄を含む酵素はメタ型開裂、3 価鉄を含む酵素はオルソ型開裂と、酵素に含まれる鉄の荷電状態と開裂部位との間に特異性があると考えられていたが、今回の結果は 3 価鉄酵素がある種の基質に対してはオルソ型と同時にメタ型開裂を触媒することを明らかにし、従来の仮説をくつがえすものであり、非ヘム鉄

酸素添加酵素の反応機構の解明に新しい緒口を与えるものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

緑膿菌から高度に精製されたピロカテカーゼはカテコールを2つの水酸基の間で酸化的に開裂し、ムコン酸を生成する典型的なイントラダイオール型の酸素添加酵素である。著者は本酵素が3メチルカテコールを基質にした場合、オルソ型開裂と同時に、約5～6%程度のメタ型開裂を触媒する事を発見した。そこでこれらの生成物を分離して質量分析、赤外吸収、NMRなどを用いて同定を行うと共に、精製過程の異った酵素標品、各種阻害剤を用いた実験、単一コロニーから分離した菌を用いた実験等により、両活性が同じ酵素によるものであることを証明した。

以上の結果は酸素添加酵素の反応機構の解明に貢献し、同一酵素が同一基質に対し2種の異なる反応を触媒するという可能性を示唆したもので酵素学の進歩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。