

氏 名	平 田 扶 桑 生 ひら た ふ さ お
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	医 博 第 468 号
学位授与の日付	昭 和 50 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	Studies on Metapyrocatechase —Circular Dichroism and Optical Rotatory Dispersion— (メタピロカテカーゼに関する研究—円偏光二色性と施光分散—)

論文調査委員 (主 査)
教 授 沼 正 作 教 授 村 地 孝 教 授 早 石 修

論 文 内 容 の 要 旨

メタピロカテカーゼは、カテコールから α -ヒドロキシムコン酸セミアルデヒドを生ずる二原子酸素添加酵素である。緑膿菌から得た本酵素の結晶標品は、二価鉄を酵素一分子あたり三原子有する。この酵素標品中の鉄は酵素活性と密接な関係を有し、基質と鉄の間に何らかの相互作用が示唆されるにもかかわらず、直接的な証拠は得られていない。本酵素の反応機構における鉄の役割を明らかにするために、施光分散 (ORD) 及び円偏光二色性 (CD) の分光学的性質を基質であるカテコールの存在下及び非存在下で比較検討した。

メタピロカテカーゼは α -ヘリックス含有率の少ない高次構造を保っており、この高次構造はアルカリ性水溶液或いは尿素存在下で破壊されるが、鉄を酵素標品から除く処理を行っても変化しない。嫌気的条件下で基質を添加すると、300nmにおける正の分子楕円係数が減少すると共に、新たに317nmに負の CD のピークが顕われる。しかし、250nm 以下の α -ヘリックスに由来すると考えられる CD のスペクトルは変化しない。317nmにおける CD の吸収を用い、酵素に結合するカテコールの量を定量すると酵素1モルに対し基質3モルが結合する事が判明した。同様の結果は、本酵素により代謝されうる基質類縁体を用いても得られた。一方、拮抗阻害剤となる代謝されない基質類縁体はメタピロカテカーゼの CD スペクトルに影響を及ぼさないが、カテコールにより惹起される317nmの CD 吸収の出現を抑制した。又、317nmの CD 吸収の分子楕円係数はメタピロカテカーゼに含有される鉄の量と正比例の関係がある。以上の結果から基質が酵素に結合した際観察される光学活性の不斉性、即ち317nmにおける円偏光二色性の吸収の出現は、酵素蛋白における基質結合部位と鉄結合部位付近の局所的なコンホメーションの変化によるものと推論される。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

二価の非ヘム鉄を活性中心に有する酸素添加酵素は可視部に吸収がないために反応機構の研究、とくに

鉄の役割を解明することが従来きわめて困難であった。著者は結晶標品のメタピロカテカーゼを用いて施光分散 (ORD) および円偏光二色性 (CD) を詳細に検討し、鉄の存在は直接高次構造の維持に関与せず、おそらく基質の結合部位として活性に直接関与していることを証明した。即ち嫌氣的条件下で基質または基質類縁体を酵素に添加すると300nmにおける正の分子円偏係数は減少し、新たに317nmに負の CD のピークがあらわれる。この317nmの吸収を用い酵素に結合する基質の量を定量にすると鉄一原子に一分子の基質が結合していることが証明された。さらに拮抗阻害剤を用いた実験などから、317nmの CD のピークは酵素たん白の基質結合部位と鉄結合部位の局所的コンホメーションの変化によるものと推論された。以上の研究は従来きわめて困難であった二価鉄型酸素添加酵素の反応機構解明に貢献するところが大きい。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。