

氏 名	鈴木 伊豆美 すず き い ず み
学位の種類	農 学 博 士
学位記番号	論 農 博 第 407 号
学位授与の日付	昭 和 47 年 9 月 25 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	動物臓器における hexosaminidases および hexosidases に関する研究

(主 査)
論文調査委員 教授 小野寺幸之進 教授 緒方浩一 教授 千葉英雄

論 文 内 容 の 要 旨

高等動物の組織にはさまざまなヘキソサミンやヘキソースが、ムコたんぱく質、糖たんぱく質、または糖脂質などの形態で存在し、それぞれの機能をあらわすとともに、細胞内の代謝にあずかっている。これらの物質の糖部分の代謝分解の面でヘキソサミニダーゼ類およびヘキソシダーゼ類は重要な役割をもつと考えられるが、その実態についての詳細なことはわかっていなかった。本論文は高等動物の各種の臓器を用いて、この二つの酵素群について追求した結果を論述したものである。

まず酵素化学的な検討のため、ヘキソサミニダーゼ類の基質としてフェニール α - および β -N-アセチル-D-グルコサミナイドならびにフェニール α - および β -N-アセチル-D-ガラクトサミナイドを選び、またヘキソシダーゼ類の基質としてフェニール α - および β -D-グルコサイド、フェニール α - および β -D-ガラクトサイドならびにフェニール α -D-マンノサイドを用い、臓器抽出液を酵素液として実験を行なった。

最適 pH については、 β -グルコサミニダーゼ、 β -ガラクトサミニダーゼでウサギおよびラットの各種臓器酵素を通じて pH 4.3 を示した。これに対して α -グルコサミニダーゼおよび α -ガラクトサミニダーゼでは、それぞれ動物種によって多少の変動 (pH 4.3~5.0) を示した。

さらに β -ヘキソサミニダーゼ類はアルブミンおよび NaCl によって賦活されるが、 α -ヘキソサミニダーゼ類は影響を受けないこと、また K_m は各種臓器を通じて β -グルコサミニダーゼで 1.8~2.4 mM, β -ガラクトサミニダーゼで 1.0~1.5 mM, α -グルコサミニダーゼで 0.8~1.2 mM, α -ガラクトサミニダーゼで 6.5~7.2 mM であることが判明した。

電気泳動法による移動度、低温保存中の安定性および耐熱性などの比較によると、 β -グルコサミニダーゼと β -ガラクトサミニダーゼとは同様の挙動を示した。さらに生成物阻害では N-アセチル-D-グルコサミンと N-アセチル-D-ガラクトサミンとはそれぞれ β -グルコサミニダーゼおよび β -ガラクトサミニダーゼを非特異的に拮抗阻害すること、ならびに上記の化合物のラクトンも同様の阻害を示すことがわかっ

た。この4種の化合物は、いずれも β -グルコサミニダーゼに対するKiと β -ガラクトサミニダーゼに対するKiとはほとんど同じ値を示した。さらにまた酵素-基質の結合に対してそれぞれの基質が拮抗現象を示したのである。これらの結果から β -グルコサミニダーゼ活性と β -ガラクトサミニダーゼ活性とは同一酵素に由来するものであり、しかも同一の活性中心による基質特異性の表示と結論できる。

一方 α -グルコサミニダーゼと α -ガラクトサミニダーゼに関しては、この両者は移動度、安定性、耐熱性において著しく異なっており、生成物阻害も対応する生成物だけによる特異的阻害がみられること、ならびに酵素-基質結合に対して他のものは何らの影響もおよぼさないことなどから、別種の酵素と考えられる。

ヘキシソダーゼ類についても、前述の5種類の基質を用いて検討を行なった。ウサギでは α -マンノシダーゼ、 α -グルコシダーゼおよび β -ガラクトシダーゼで、またラットでは α -マンノシダーゼおよび α -グルコシダーゼでpH活性度曲線上に酸性側と中性付近とにピークが出現することがわかった。その両者の活性比は臓器の種類によって著しい差が認められる。これらの酸性酵素と中性酵素とでは安定性が著しく異なり、またKm値も著しい差を示す。その他耐熱性および金属イオン要求性もそれぞれの両酵素の間で著しい差がみられた。

このような基礎的検討の結果に基づいてウサギおよびラットの各種臓器について前述の4種のヘキシソサミニダーゼを5種のヘキシソダーゼの活性の比較を行なった。ヘキシソサミニダーゼ類の活性は臓器の種類によって著しく異なり、全臓器を通じて β -グルコサミニダーゼが最も高活性であることが判明した。ヘキシソダーゼ類の活性も臓器の種類によって異なるが、とくに高い活性を示すものはなく、2,3のものが臓器特異性を示した。なお、これら酵素群の生化学的意義について考察した。

論文審査の結果の要旨

ムコたんぱく質、糖たんぱく質、糖脂質などは動物組織の重要な構成成分で、いずれもヘキシサミンやヘキソースをその分子中に含有している。この糖部分の代謝に関与する酵素としてヘキシサミニダーゼ類およびヘキシソダーゼ類の二群が知られているが、高等動物組織の、これら酵素群については、詳細なことはほとんどわかっていなかった。

著者は、有機合成によって得られた純粋な基質を用いてウサギおよびラットの各種臓器における α -および β -D-グルコサミニダーゼ、 α -および β -D-ガラクトサミニダーゼと、一方、 α -および β -D-グルコシダーゼ、 α -および β -D-ガラクトシダーゼ、ならびに α -D-マンノシダーゼについて酵素化学的検討を行ない、それらの結果に基づいて、これら酵素群の生化学的意義について論考し、新しい知見を得ている。

まず、ヘキシサミニダーゼ類の検討によって、はじめてその酵素化学的性質を明らかにし、それらの結果に基づいて、 β -グルコサミニダーゼ活性と β -ガラクトサミニダーゼ活性とは同一酵素で、かつ同一の活性中心に基づくことを明らかにした。一方 α -グルコサミニダーゼと α -ガラクトサミニダーゼとは別種の酵素であることを立証した。

つぎに、ヘキシソダーゼ類について検討した結果、中性 α -マンノシダーゼの存在をはじめて立証し、ま

た、中性 α -グルコシダーゼおよび β -ガラクトシダーゼの性質が、それぞれ対応する酸性酵素の性質と著しく異なっていることを明らかにしたが、これは isozyme として存在するものと思われる。なお、これらの中性酵素と酸性酵素に対する生体内基質が異なるものと推論した。

これらの基礎的検討結果に基づいて、各種臓器におけるヘキソサミニダーゼ類とヘキソシダーゼ類の活性水準を測定し、その実態と相対的関係を明らかにして臓器特異性を顕著に示す酵素の存在を指摘した。各種臓器において酵素の活性水準が異なるという事実は、動物臓器においてこれらの酵素群が演ずる生化学的役割と密接に関連すると推論している。

このように本研究は、動物臓器におけるヘキソサミニダーゼ類とヘキソシダーゼ類の実態についてその詳細を始めて明らかにしたもので、生物化学の分野に貢献するところがきわめて大きい。

よって、本論文は農学博士の学位論文として価値あるものと認める。