

氏 名	嶋 本 伸 雄 しま もと のぶ お
学 位 の 種 類	理 学 博 士
学 位 記 番 号	理 博 第 471 号
学位授与の日付	昭 和 52 年 7 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	理 学 研 究 科 物 理 学 第 一 専 攻
学 位 論 文 題 目	α-Chymotrypsin-Catalyzed Hydrolysis of Phenyl Acetate—Large Hammett's ρ Constant and Participation of Histidine-Acylated Intermediate (α -キモトリプシンによって触媒された酢酸フェニルエステル加水分解—大きなハメットの ρ 値とヒスチジンがアシル化された中間体の関与)
論文調査委員	(主査) 教授 寺本 英 教授 浅井健次郎 教授 大井龍夫 教授 富田和久

論 文 内 容 の 要 旨

α -キモトリプシンによるエステルの加水分解反応において、置換基効果を調べるのに有効な手がかりとして通常用いられているハメットの公式の ρ 値が、特異的エステルに対しては大体0.5であるのに較べて、非特異的エステルである酢酸フェニルエステルでは2.0という異常に大きな値を示すことが知られている。この原因については、2つの説があり、第1は ρ の絶対値は求核攻撃をする ser 195 を助ける他の基による一般酸触媒等によって低下したり、また酵素反応特有の未知の機構で値が変わり、低分子反応の ρ 値の解釈がそのまま適用できないとする説である。もう一方の説は、低分子反応における ρ 値の解釈は酵素反応においても適用できて、2.0近い ρ 値は、ser195のみの求核攻撃とは考えられず、his 57のような荷電をもたない求核基が関与しているとするものである。この2説の対立の解決は、 ρ 値が他の酵素反応の機構の解明にも重要な役割をしていることから考えて、有機物理化学と酵素反応機構論の間にある障壁をとり除く意味で重大な課題である。申請者は周到な実験と新しい解析法を考案することによって、後者の説が正しいことを明確にしている。

まず、定常状態速度論の範囲で基質活性化現象と、多くの基質についての ρ 値を系統的に実測し、前定常状態速度論と定常状態速度論を結合させた新しい解析法を用いて、いくつかの基質は通常提唱されている2段階機構に従っていないことを示した。こうした異常な基質の反応機構を調べるために、申請者は、脱アシル化速度を、アシル中間体の濃度と定常状態の速度から直接求める新しい手段を、2重に基質を用いることによって創案した。その結果異常な振舞いを示す基質は、脱アシル化速度が基質活性化以外の原因で基質依存性を示し、しかも低い溶媒重水素効果を示すことから、単一のアシル中間体をもつ系としては説明不可能であることを明らかにした。さらに、この場合、非定常脱アシル化が2相緩和的であることを観察し、少なくともアシル中間体が複数存在することを証明した。そして、SDS変性後のアシル中間体の吸収スペクトルの解析から、異常中間体がアセチルヒスチジンであることを発見し、his 57のイミダゾールにアセチル基を持つ可能性が非常に強いことを見出した。

以上の系統的な解析の結果から、問題となっている ρ 値の解釈は、低分子反応における解釈に一致し、結局第2の説が正しいことが明確にされている。

論文審査の結果の要旨

反応過程におよぼす置換基の影響を調べるのに有力な方法として通常使われているハメットの公式とその解釈が、低分子反応の場合と同様に酵素反応に対しても一般に適用できるかどうかという疑問が、 α -キモトリプシンによるエステルの加水分解反応に関連して重要な問題になっている。すなわち、ハメットの ρ 値が特異的エステルに対しては大体0.5であるのに較べて、酢酸フェニールエステル2.0という異常に大きな値を示すことが分っている。この原因について2つの説があり、1つは酵素反応特有の未知の機構がいろいろ関係して ρ の値が変わり、低分子反応の ρ 値の解釈はそのまま適用することは出来ないという立場であり、他方は、低分子反応での ρ 値の解釈は酵素反応系でも適用できて、この大きな ρ 値は、反応が ser 195の求核反応だけではなく、his 57のような荷電をもたない求核基が関与していることによるのだ、という説である。この2説の対立の解決は、すでに ρ 値が他の酵素反応の機構の解明に重要な役割を果たしていることから考えても、有機物理化学と酵素反応機構論の間の障壁を取り除く意味で極めて重大な課題である。申請者は周到な実験と新しい解析法の導入によって、後者の説が正しいことを明確にした。

申請者は独自の実験的解析手段を用いて、系統的な実験によって、異常な性質を示す基質の反応過程では、少なくともアシル中間体が複数存在することを証明し、その異常中間体がアセチルヒスチジンであることを発見している。このことによって、 ρ 値の異常が his 57 が反応過程に直接的に関与していることが原因になっていることが明確にされ、2つの説の対立にはっきりした決着がついたのである。これは今後の酵素反応機構の研究法に指針を与える基本的な問題を解決した業績として大いに評価されるべきものだといってよい。

参考論文2編は、上記の結論に導くための前提となる研究をまとめたもので、そこで前定常状態速度論と定常状態速度論を組み合わせた新しい解析法を創案して、基質効果の異常性を系統的に調べている。これらの仕事は、申請者が酵素反応機構の研究分野ですぐれた物理化学的知識と鋭い洞察力をもった研究者であることを示している。

よって、本論文は理学博士の学位論文として価値あるものと認める。