

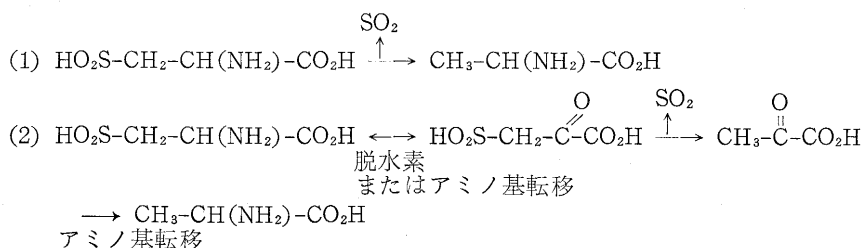
氏 名	隅 水 隍 一 郎 す みず こう いち ろう
学 位 の 種 類	理 学 博 士
学 位 記 番 号	理 博 第 5 6 号
学 位 授 与 の 日 付	昭 和 37 年 12 月 18 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	理 学 研 究 科 化 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	哺 乳 動 物 に お け る 含 硫 ア ミ ノ 酸 の 代 謝 に つ い て

論文調査委員 (主 査)
教 授 田 中 正 三 教 授 後 藤 良 造 教 授 大 杉 治 郎

論 文 内 容 の 要 旨

蛋白質を構成しているアミノ酸類については、それらの生体内での代謝経路がほとんど解明されたが、イオウを含むアミノ酸で、特に蛋白質構成にはあずからないで、遊離状態や抱合体の形で生体内にあらわれるアミノ酸の代謝やこれに関与する酵素類についての研究報告はきわめて少ない。著者の研究は、この空白部をうづめるいくつかの新知見をえたものであり、酵素化学の立場で大きい意義をもつものである。

主論文第1部は、白ネズミ肝臓のシステインスルフィン酸分解酵素に関するものである。肝臓のホモゲネートが、酸素の存在の下にシステインスルフィン酸を分解してタウリン、アラニン、硫酸および二酸化炭素を生成することを認めて、この組織にはシステインスルフィン酸よりアラニンを生成する酵素(I)、システインスルフィン酸脱炭酸酵素(II)、ハイポタウリン酸化酵素(III)などが存在することを推定し、まず、(I)の酵素の追究を行なった。すなわち、ホモゲネートのアセトン分画やヒドロキシラミンによる(II)の酵素の阻害などの操作によって、システインスルフィン酸を分解して定量的にアラニンと硫酸とを生成する酵素の存在を確認して、これを比活性30倍に高めることに成功した。さらに、この酵素がピリドキサル-5-リン酸を助酵素とすることや無酸素条件下ではシステインスルフィン酸よりアラニンと亜硫酸とを生成することなどを明らかにしており、好氣的条件下に生ずる硫酸は亜硫酸の酸化によって生成した二次的産物であるとしている。このシステインスルフィン酸分解の機構には(1)式に示した直接的な脱亜硫酸反応によるものと、(2)式に示すように脱水素酵素またはアミノ基転移酵素の作用によって



まずシステインスルフィン酸がアミノ基を失ったのち脱亜硫酸してピルビン酸を生じ、このピルビン酸がさらにアミノ基転移反応によってアラニンとなる機構とが考えられる。著者はピルビン酸-1-¹⁴Cの共存の下にこの酵素反応を行なわせて、放射性アラニンの生成もピルビン酸-1-¹⁴Cの減少も全くおこらないことを確証して、この酵素反応が(1)式の機構の直接的分解を触媒するシステインスルフィン酸脱亜硫酸酵素によって営まれるものであることを明らかにした。

主論文第2部は、システインスルフィン酸脱亜硫酸酵素の詳細についての研究である。白ネズミ肝臓ホモゲネートのアセトン分画、硫安分画などの処理によって比活性を115倍まで高めた酵素標品について、この酵素は最適pH6.25、最適温度37.5°C、K_A値 2.5×10^{-4} M、K_S値 2.2×10^{-3} Mであり、 10^{-5} Mのp-クロロマーキュリベンゾエートで完全阻害をうけ、 10^{-3} MのCa⁺⁺・Mg⁺⁺で促進を受けることなどを明らかにした。また、この酵素によって前記の(1)式の反応が定量的に進行するが、逆反応はほとんど認められないことやこの酵素がシステインスルフィン酸を特異的な基質とし、ハイポタウリンなどには全く作用しないことなどを確認した。

主論文第3部は、鼠肝のハイポタウリンのスルフィニル基を酸化する酵素に関する研究である。鼠肝のホモゲネートにハイポタウリンをメチレンブルー、2,6-ジクロロフェノールインドフェノール、FADおよびDPNとともに加えると急速に色素が褪色する。この変化にあずかる酵素は、ホモゲネートの硫安分画、 10^{-5} MBAL溶液に対する透析などの操作によってその比活性を高めることができた。このようにして精製した酵素標品ではFADによる活性化が認められなくなるが、DPNは不可欠であり、ハイポタウリンの酸化は次式のように脱水素



的に進行するものであることが確認された。この酵素は最適pH7.5~7.8で、KCN(10^{-4} M)や硫安(10^{-2} M)で阻害され、 10^{-3} ~ 10^{-4} Mのシステイン・BAL・2-メルカプトエタノールなどで活性化され、また、補助因子としてはDPNが特異的で、TPNではDPNの作用が置換されないことなどを明らかにした。

参考論文その1は、シス型のピルビン酸の2,4ジニトロフェニルヒドラゾンがNi⁺⁺の共存の下で亜鉛末で還元されるとき赤色の発色がおこることを発見し、これがニッケルのキレート化合物の生成によるものであり、このキレートの生成はα-ケト酸のつくる2位にニトロ基のあるフェニルヒドラゾンのうちシス型異性体に特有のものであり、トランス型異性体やβ-またはγ-ケト酸のヒドラゾンではキレートができないことを確認した。

その2は、α-ケト酸のシス-トランス互変異性と使用溶媒の極性やpHなどとの関係をしらべた研究である。

その3は、イモチ病菌のキシラン分解酵素に関するものである。この菌は最適pHが6.4と8.1の2種のキシラン分解酵素を分泌することを発見し、それぞれの分離、精製および詳細な性質について研究したものである。

その4は、ハイポタウリンの微量定量法に関するもので、このアミノ酸を過剰の次亜ヨウ素酸を加えて酸化したのち残存する次亜ヨウ素酸を酸分解して遊離するヨウ素を比色法によって定量し、5~40μmols/mlの微量ハイポタウリンの定量に成功した。

論文審査の結果の要旨

蛋白質を構成しているアミノ酸類の代謝の化学的過程に関しては数多くの研究報告がなされて、ほぼ解明された段階に到達したが、蛋白質構成にはあずからないで、遊離状態や抱合体の形で生体内にあらわれるアミノ酸の代謝に関する研究は少なく、特にこの種の含硫アミノ酸の代謝過程やこれに関与する酵素類の詳細をしらべた研究はほとんどない現状である。著者の研究は、この空白部をうずめるいくつかの新事実を発見したものであり、生化学的に大きい意義をもつものである。

すなわち、主論文第1部においては、鼠肝がシステインスルフィン酸をアラニン、タウリン、硫酸、二酸化炭素などに分解することを認めて、この変化に関係する酵素のうちにシステインスルフィン酸を直接アラニンと亜硫酸とに分解する酵素があることを明かにし、主論文第2部において、この酵素を精製して性質を詳細に研究して、これがピリドキサル-5-リン酸を助酵素とする酵素であることを明らかにしている。また、主論文第3部では、鼠肝にハイポタウリンのスルフィニル基を酸化する酵素が存在することを認めてこれの精製を行ない、DPN を補助因子とする一種の脱水素酵素であることを証明している。

要するに、著者隅水瑠一郎は哺乳動物の肝臓に含まれている含硫アミノ酸を分解するいくつかの酵素の確証とその詳細について研究して、貴重な新知見をえて酵素化学の分野の発展に寄与するところが少なくない。また、主論文・参考論文を通じて生物化学の領域において豊富な知識とすぐれた研究能力とをもっていることが認められる。

よって、本論文は理学博士の学位論文として価値があるものと認める。