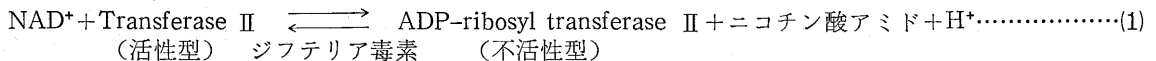


氏 名	本 庶 佑
	ほん じょ たすく
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	医 博 第 463 号
学位授与の日付	昭 和 50 年 1 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 生 理 系 専 攻
学位論文題目	ADENOSINE DIPHOSPHATE RIBOSYLATION OF AMINOACYL TRANSFERASE II AND INHIBITION OF PROTEIN SYNTHESIS BY DIPHTHERIA TOXIN (アミノアシルトランスフェラーゼⅡの ADP リボシル化とジフテ リア毒素による蛋白質合成の阻害)
論文調査委員	(主 査) 教 授 沼 正 作 教 授 早 石 修 教 授 植 竹 久 雄

論 文 内 容 の 要 旨

ジフテリア毒素は分子量約7万の蛋白質であって、培養細胞及び無細胞系での蛋白質の生合成を抑制する。1967年、Collier 並びに Goor と Pappenheimer は毒素が NAD の存在下に、蛋白合成に関与する酵素の一つである Aminoacyl transferase II (以下 transferase II と略す) を不活性化することを報告した。しかしながら、この transferase II の不活性化の詳細な機構、殊に NAD の役割に関しては全く不明であった。

本論文において著者はジフテリア毒素が NAD の ADP—リボース部分を transferase II に転移することにより、transferase II を不活性型にすることを証明した(1)。



まず、分子中のアデニン、アデノシン、リン酸、リボース及びニコチン酸アミドの各部位をそれぞれ ^{14}C 、 ^{32}P および ^3H で標識した NAD 標品を酵素的に合成し、ラットの肝臓のホモジネートから750倍以上精製してほぼ均一標品となった transferase II とジフテリア毒素と共に反応させて、放射能の酸不溶性分画への取込みを測定した。その結果、NAD のニコチン酸アミド部分以外のすべての部分、即ち、ADP—リボース部分が酸不溶性の高分子分画に転移されることを見出した。これと同時に当量のニコチン酸アミドが生じた。酸不溶性の反応産物をハイドロキシルアパタイトのカラムクロマトグラフィーで分画して解析した結果、ADP—リボースは transferase II に結合していることが明らかとなった。さらに、transferase II の ADP—リボシル化された度合とこの酵素の不活性化の度合とは一致した。この反応は可逆的であって、ジフテリア毒素により ADP—リボシル化された不活性型の transferase II とニコチン酸アミドから再び活性型の transferase II と NAD を生じる。

反応の初速度は用いた毒素の量と比例関係にあるが、反応産物の量は過剰の NAD の存在下では transferase II の量にのみ比例する。また、用いた毒素の50倍量以上の反応産物が生ずることなどから、

ジフテリア毒素はこの反応の触媒、即ち酵素であると考えられる。

Transferase II の分子量を 65,000 として計算すると、1 分子の transferase II に約 1 分子の ADP—リボースが結合すると考えられる。

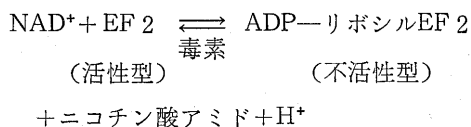
この反応の至適 PH は正反応では 8.5 であり、逆反応では 5.2 であった。Km は NAD に対しては PH 7.4 で $5 \times 10^{-6} \text{M}$ であり、ニコチン酸アミドに対しては PH 5.2 で $5 \times 10^{-4} \text{M}$ であった。反応は NAD に特異的であり、チオニコチン酸アミドの NAD 類縁体を除いて、NADP, NMN 及び NADH はいずれも無効であった。ラッテ肝臓中にジフテリア毒素によって ADP—リボシル化される蛋白質としては transferase II 以外のものは見出されなかった。

ADP—リボシル化反応の平衡定数は 37° で 6.3×10^{-4} である。これから ADP—リボースと transferase II の結合エネルギーを計算すると約 4000 カロリー / モル (PH 7, 25°) となる。これはプリンリボシドのリボシド結合やグリコゲンのグリコシド結合などと同程度の結合エネルギーである。

生体の酸化、還元、助酵素である NAD がこのように全く別の役割をする例としては、この他に細胞核でのヒストンの ADP リボシル化反応と微生物における DNA リガーゼのエネルギー供与体となる例が知られているだけである。Transferase II が ADP—リボシル化されて、不活性型に転換するということは、生体の代謝調節機構の一つとして、ADP—リボシル化が何らかの役割をしている可能性を推測させる。

論文審査の結果の要旨

ジフテリア毒素は分子量 62000 の蛋白質であって、これまで NAD の存在下に蛋白質の生合成を抑制することが知られていたが、その詳細な機構は不明であった。本論文はジフテリア毒素が NAD の ADP—リボース部分を、蛋白合成に関与する酵素である EF 2 に転移することにより、この酵素を不活性型にすることを証明した。この反応は可逆的で下記の式で表わされる。本反応において毒素は酵素として作用し、1 分子の EF 2 に 1 分子の ADP—リボースを結合させる。



その結合エネルギーは約 4000 カロリー / モル (PH 7, 25°) であった。

この反応は EF 2 に特異的であり、ラッテ肝臓の上清中には EF 2 に置き換わるものは見出されなかった。

本論文は以上のようにジフテリア毒素の作用機作を分子レベルで解明したものであり、医学上極めて重要な知見と考えられる。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。