

氏 名	吉 田 千 秋 よし だ ち あき
学 位 の 種 類	農 学 博 士
学 位 記 番 号	農 博 第 114 号
学 位 授 与 の 日 付	昭 和 45 年 9 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	農 学 研 究 科 農 芸 化 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	STUDIES ON STRUCTURE AND FUNCTION OF PEROXIDASE (ペルオキシダーゼの構造と機能に関する研究)

論文調査委員 (主 査)
教 授 森 田 雄 平 教 授 秦 忠 夫 教 授 千 葉 英 雄

論 文 内 容 の 要 旨

植物ペルオキシダーゼに関する研究はこれまで多数行なわれたが、この酵素の生理的役割、構造と触媒機能との関係などについてなお不明な点が多い。そこで著者はこれらの問題を解明するために、大根ペルオキシダーゼについて本研究を行なった。

まずポリアクリルアミドを用いるゲル電気泳動分析を行ない、大根ペルオキシダーゼには18種のアイソザイムが存在すること、およびこれらのうち酸性アイソザイムが主成分であることなどを明らかにした。ついでイオン交換クロマトグラフ法、ゲルろ過クロマトグラフ法、塩析法などを用いて、各アイソザイムの単離精製を行なった。その結果18種のアイソザイムのうち少なくとも6種を単一の状態にまで分離して、それぞれ電気泳動による同定を行ない、4種を結晶状に調製した。さらに4種のアイソザイムの理化学的特性と酵素学的性質を詳細に比較検討した。その結果アイソザイムは酸性、中性、塩基性の3群に大別され、これらは分子量、化学組成、水酸化物への解離、シアンとの親和性、反応速度定数の値などにおいて大きな差があることを明らかにした。

次に酸性主成分の1種No. 3アイソザイムについて、その化学組成を明らかにするとともに、円偏光二色性、アルカリ滴定、吸光分光、蛍光分光などの方法により、ペルオキシダーゼの高次構造を研究した。この結果ペルオキシダーゼ分子は、規則性構造としてかなりの α -ヘリックス構造をもつことを明らかにし、また芳香族アミノ酸残基は、分子の表面に露出せず、内部に埋れてヘマチンとともに疎水性領域を形成していることを示した。さらにペルオキシダーゼは酸、尿素、塩酸グアニジンなどにより変性をうけて α -ヘリックス構造を消失し、芳香族アミノ酸残基を分子表面に露呈し、これに伴ってヘマチンが脱離することを明らかにした。

またペルオキシダーゼの触媒作用は、プロトヘマチンの鉄原子を中心として遂行されることが知られているが、触媒機構を解明するためには鉄の電子状態に関する知見が必要である。そこで著者は大根ペルオキシダーゼと、その類似ヘムタンパク質メトミオグロビンについて ^{57}Fe のメスバウアー効果を測定し

て、反応中間体の電子状態を研究した。その結果この酵素の2種の反応中間体は、いずれも鉄が4価の状態にあることを証明し、この事実に基づいてペルオキシダーゼの反応機構を明らかにした。

論文審査の結果の要旨

ペルオキシダーゼはひろく植物界に分布する酵素であり、この酵素に関して古くからきわめて多くの研究が行なわれてきた。しかしこの酵素の生理的意義や、化学構造、触媒機能と構造との関係などについて、なお不明な点が多い。著者はこれらの問題を解明するために、大根ペルオキシダーゼについて研究を行ない、次のような成果をあげた。

まずゲル電気泳動法により、大根ペルオキシダーゼには18種のアイソザイムが存在することを明らかにしたのち、各アイソザイムを単離精製して、それぞれを同定するとともに、アイソザイムの理化学的特性と酵素学的性質を詳細に比較検討した。この結果従来の報告に見られる矛盾した実験成績が、アイソザイムの観点からよく説明されることを示した。次に主成分である酸性アイソザイムの1種について、その化学構造、とくに高次構造について研究し、この酵素の化学構造上の特性をはじめて明らかにした。また変性に伴う諸性質の変化をしらべて、ヘマチンが高次構造保持に重要な役割を果していることを示した。さらにペルオキシダーゼとメトミオグロビン中の ^{57}Fe のメスバウアー効果を研究して、この酵素のヘム鉄の電子状態を明らかにし、これに基づいて反応機構を矛盾なく説明している。

このように本論文は植物ペルオキシダーゼの構造と機能に関して貴重な新知見を与えたものであり、酵素化学、タンパク質化学、および植物生理学に貢献するところが大きい。

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。