

氏 名	山 本 愛 二 郎
	やま もと あい じ ろう
学 位 の 種 類	農 学 博 士
学 位 記 番 号	農 博 第 108 号
学 位 授 与 の 日 付	昭 和 45 年 5 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	農 学 研 究 科 農 芸 化 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	STUDIES ON SOYBEAN LIPOXYGENASE (大豆リポオキシゲナーゼに関する研究)

	(主 査)	
論文調査委員	教 授 満 田 久 輝	教 授 緒 方 浩 一 教 授 千 葉 英 雄

論 文 内 容 の 要 旨

必須不飽和脂肪酸を酸化して過酸化物とする反応を触媒する lipoxigenase は酸素添加酵素の一種で、食品加工に利用する試みもなされているが、基礎的研究は十分でない。

著者は本酵素の新結晶調製法を考案確立し、簡便な測定法としてポーラログラフ法を導入して懸案の課題を解決したのち、その酵素化学的ならびにタンパク質化学的諸性質を究明している。

つぎに、直鎖アルコール類がその炭素数の増加につれて本酵素反応をより著しく阻害し、その炭素数と pKi 値との間に直線関係が成立することを見出だしている。分岐鎖アルコール類については、他の酵素反応の阻害やタンパク質の変性など疎水性結合形成と直接関係のある実験結果に基づいて有効炭素数を算出し、それを用いることによって酵素基質複合体の形成に関して直鎖アルコール類と共に阻害能が評価できることを明らかにしている。またアルコール類の沸点、エントロピー値、水—オクタノール間の分配係数の対数値など、疎水性結合形成能と関係のある諸物性定数と本酵素反応に対する pKi 値の間に 0.9 以上の相関係数を見出だしている。これらの結果から、アルコール類が疎水性結合を通じて本酵素と結合して反応を阻害することを明らかにし、さらにその動力学的研究から本酵素が触媒中心以外に疎水性の結合中心を有することを結論している。

また脂質の自動酸化防止に有効とされているフェノール系抗酸化剤について本酵素反応に対する阻害作用を検討した結果、o—ジフェノール類はモノフェノール類や m—, p—ジフェノール類よりも顕著な阻害効果を有することを見出している。阻害効果の最も顕著であった NDGA (nordihydroguaiaretic acid) についてはその作用様式を詳細に検討し、可逆的かつ拮抗的阻害剤であるのみならず、条件によっては不可逆的失活を来すものであることを明らかにしている。著者は本酵素の拮抗的阻害剤であるリノールエライジン酸が NDGA による本酵素の失活を十分に防止することができず、またその失活速度は NDGA の自動酸化速度に比例することから、NDGA は脂質自動酸化反応におけるように水素供与体となるのみならず、本酵素の拮抗的阻害剤ならびに不活性化剤として作用するものと結論している。さらに不均一系

における lipoxxygenase 反応の性質についても興味ある新知見を見出だしている。

論文審査の結果の要旨

Lipoxxygenase は広く植物界に分布する酸素添加酵素の一種であり、動物の栄養上必要とされているリノール酸、リノレン酸、アラキドン酸などの必須不飽和脂肪酸を酸化して過酸化物とする反応を触媒する。

本酵素が食品の貯蔵、加工中にもたらす種々の現象については古くから知られており、実用的な作用についての知見は多いが、酵素化学的研究は極めて少ない。

著者は本酵素をアルギン酸処理、硫酸分別、熱処理、アルコール分別および CM—Sephadex を用いたカラムクロマトグラフィーなどにより比較的容易に精製結晶化する方法を確立し、電気泳動的ならびに超遠心的に単一な標品を得ている。さらに Clark 酸素電極を用いるポーラログラフ法を導入して本酵素活性を精度よく検定している。単純タンパク質である本酵素の活性発現には特定のアミノ酸残基が関与するものと考えられるが、著者は種々のアミノ酸修飾剤の本酵素活性に及ぼす影響を比較検討し、methylen blue による光酸化、中性ないしはアルカリ性での過酸化水素、 I_2 、SH 化合物の自動酸化産物などが、著しい失活をもたらすことを見出だしている。さらに酵素—基質複合体の形成には基質の炭化水素鎖が関与することを種々のアルコールによる阻害実験から明らかにしている。

つぎに脂質の自動酸化防止に有効とされている代表的フェノール系抗酸化剤について本酵素反応に対する阻害作用を検討している。

また脱脂大豆の水抽出液中に Ca^{++} により賦活され、至適 pH が 6.5 付近にある lipoxxygenase が含まれていることを見出だし、この Ca^{++} 依存性酵素を水抽出液から 20~30% 飽和硫酸分画、DEAE—および CM—Sephadex クロマトグラフィーにより電気泳動的にほぼ単一な成分として得ることに成功し、lipoxxygenase b と命名している。一方、著者は先に得た結晶酵素を lipoxxygenase a と命名し、その至適 pH が 9.0 であり、 Ca^{++} はむしろ阻害的に作用することから、酵素 b とは異種のものであることを確認している。酵素 b が顕著な基質阻害を受け、 Ca^{++} 添加によってこれが防止されるなどの差異を見出だしている。

以上のように、本論文は大豆 lipoxxygenase の活性発現の機構ならびに反応性について幾多の新知見を明らかにし、酵素化学ならびに食品工学に寄与するところが極めて大きい。

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。