

氏 名	野 田 洋 一 の だ よう いち
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	論 医 博 第 807 号
学位授与の日付	昭 和 54 年 7 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	Enzymic Modification of Tryptophan Residues by Tryptophan Side Chain Oxidase (トリプトファン側鎖酸化酵素によるトリプトファン残基の 酵素的修飾)

論文調査委員 (主 査) 教 授 沼 正 作 教 授 早 石 修 教 授 西 村 敏 雄

論 文 内 容 の 要 旨

緑膿菌より結晶化されたヘム蛋白トリプトファン側鎖酸化酵素は、3位置換インドール誘導体に広い基質特異性を示し、遊離のトリプトファンはもとより、ペプチド内トリプトファン残基をも酸化的に修飾する事が既に我々の研究室より高井らにより報告されている。

本研究では、トリプトファン側鎖酸化酵素によるペプチド内トリプトファン残基修飾の様式を明らかにする為、モデル物質 N-Ac-L-Trp-NH₂ を基質として反応を行ない産物を同定した。

[PART. I] pH 7.0~8.5 の条件下で反応を行なうと 275 nm 及び 333 nm に特徴ある吸収ピークを示す主産物 (産物 I) が得られた。大容量の反応液から脱塩後結晶化された産物 I に関して、MMR スペクトル、質量分析、紫外吸収スペクトル、元素分析等を行ない主産物 I は N-Ac- $\alpha\beta$ -didehydro-Trp-NH₂ と同定された。

[PART. II] 反応の pH を 5.5~3.5 に下げると産物 I (デヒドロ体) の生成は減少し、他の主産物 (産物 II) の生成が認められた。pH 5.5 に於ける大容量の反応液から脱塩後産物 II を結晶化し、これを NMR スペクトル質量分析、紫外吸収スペクトル、元素分析等により解析した結果、産物 II は N-Ac- β -hydroxy-Trp-NH₂ と同定され、化学合成して得た標準物質の NMR スペクトルとの比較からエリスロ・スレオ型ジアステレオマーの混合物である事が明らかとなった。更に、産物 II は本酵素の触媒作用により産物 III 即ち N-Ac- β -keto-Trp-NH₂ へと定量的に転換される事が、同様に明らかにされた。

以上の結果から、本酵素による二段階の酸化反応及び分岐反応の pH 依存性が明らかにされた。自然界に於けるデヒドロアミノ酸の存在は報告があるが、これらの生成に関与する酵素に関する報告はこれが最初であり、生じたデヒドロ体に関しては、接触還元による安定同位体標識の可能な事から、今後広く蛋白化学に本酵素の利用の可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

トリプトファン側鎖酸化酵素は緑膿菌から分離、精製されたヘムを補酵素とする酸化酵素である。本酵素は遊離のトリプトファンからインドールグリコールを生成するが、ペプチド中のトリプトファン残基をも酸化する。そこでモデル基質としてNアセチルトリプトファンアミドを用い、pH 7.0~8.5での産物を分離結晶化し、紫外吸収、元素分析、NMR 質量分析などの結果から N-Ac- α , β -didehydro-Trp-NH₂ と同定された。反応の pH を 5.5~3.5 に下げると、デヒドロ体の生成は減少し、別の生成物が認められる。後者を分離、結晶化し、同様な解析を行った結果から N-Ac- β -hydroxy-Trp-NH₂ と同定され、化学合成によって得られた標準物質の NMB からエリスロとスレオ型ジアステレオマーの混合物であることを証明した。

以上の研究は本酵素の反応機構を解明し、ペプチド内トリプトファン残基の修飾に新知見をもたらした。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。