

氏 名	藤 原 兌 子 よじ わら たか こ
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	医 博 第 486 号
学位授与の日付	昭 和 52 年 7 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	Indoleamine 2, 3-Dioxygenase. POTASSIUM SUPEROXIDE AS SUBSTRATE (インドールアミン 2, 3-2 原子酸素添加酵素一基質としての KO_2)

論文調査委員 (主査) 教授 沼 正 作 教授 早 石 修 教授 藤 原 元 始

論文内容の要旨

インドールアミン 2, 3-2 原子酸素添加酵素はトリプトファン誘導体のインドール環を開裂してフォルミルキヌレニン誘導体を生ずる反応を触媒する酵素であり、うさぎ小腸より高度に精製されている。本酵素反応にはメチレン青、アスコルビン酸が必須であり、反応はジスムターゼで阻害されることから反応に O_2^- が関与すると示唆されていた。この点を確認するために O_2^- 溶液を直接反応溶液に注入して酵素活性を測定する方法を開発し、さらにそれを用いて本酵素の反応速度論的解析を行なった。 O_2^- は水溶液中では極めて不安定であるが KO_2 をジメチルスルフォキシドに溶かすことにより O_2^- の安定な溶液を得ることができる。この溶液をインフュージョンポンプを用いて定速で酵素、メチレン青、カタラーゼ、DL—[リング-2- ^{14}C] トリプトファンを含む緩衝液に注入し反応生成物である[フォルミル- ^{14}C] フォルミルキヌレニンから放出される[^{14}C] ギ酸を測定することにより酵素活性を測定した。その結果、反応速度は酵素量と O_2^- 量の両方に依存したが、 KO_2 濃度と注入速度の両者も反応速度に影響を与え反応の最大速度は $24^\circ C$ で $65 \text{ min}^{-1} \text{ heme}^{-1}$ であった。反応液 (0.2 ml) に 1 分当たり、5.5 nmol の O_2^- を注入した時に、反応速度は最大速度の半分となり、したがって、 O_2^- に対する K_m 値は $1.3 \mu M$ と計算された。本酵素の 50% 阻害に要求されるジスムターゼ量は 1 分間に 20, 55, 550 nmol の O_2^- を注入した時、各々 0.2, 0.3, 0.6 単位であった。以上のことより O_2^- が本酵素反応に関与していることが確認された。本測定法では既知量の O_2^- を反応液に注入しており反応溶液中の O_2^- 濃度は計算式よりもとめることができるので、従来のメチレン青アスコルビン酸を用いた測定方法では不可能であった O_2^- に対する K_m 値をもとめることができ、また、 O_2^- に関する定常状態の速度論的解析も可能となった。dead end inhibitor として青酸カリを用いて解析をおこなうと酵素と有機基質であるトリプトファンが結合して酵素基質複合体をつくり、さらに O_2^- と反応すると示唆される結果が得られた。

論文審査の結果の要旨

インドールアミン 2, 3-2 原子酸素添加酵素はインドールアミンのインドール核を開裂する生理的に重要な酵素であり、従来から阻害実験などにより、 O_2^- が反応に関与すると推定されていた。著者は比較的安定な KO_2 をジメチルスルフォキシドに溶かし、インフュージョンポンプを用いて定速でこの溶液を反応混液に注入する新しい検定方法を考案し、詳細に反応機構を調べた。その結果この反応に O_2^- が必要であることを実証し、さらに定常状態の速度論的解析を行い、酵素とトリプトファンが結合して、いわゆる ES 結合物を作り、それが O_2^- と反応する事を明らかにした。

以上の研究はインドールアミンの代謝に関連する新しい酵素の性質を解明し、生体アミンの研究に寄与するところが多い。

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。