

# A-106 筒の p-hydroxyphenylpyruvate hydroxylase について

奈良大家政。浅野由美 越村清美 末安加代子 勝田啓子 丸山悦子 長谷川千鶴

目的 先に長谷川は筒からチロシン中間代謝産物である homogentigic acid (HGA) を単離し、えぐ味の成分としてこれを同定した。さらに、植物においても HGA はチロシンが脱アミノ化されて、p-hydroxyphenylpyruvic acid (pHPP) になり、これに pHPP hydroxylase が作用して生成されることを示唆した。今回は筒から pHPP hydroxylase を分離精製し、その酵素学的性質を調べると共に、HGA の生成について検討した結果を報告する。

方法 筒のアセトンパウダーから抽出した酵素液を、硫酸分画、SP-Sephadex C-50 QAE-Sephadex A-50 Sephadex G-200 の各カラムクロマトグラフィーにより分離精製した。酵素活性の測定は、Knox 法により、基質である pHPP の分解量 (pHPP borate complex をつくり 310nm の吸光度で測定する) ならびに、酸素電極法によった。また、酵素反応生成物の同定は、ペーパークロマトグラフィー (展開溶媒 イソアロパノール: 酢酸エチル: 水 = 65:24:12) にて行ない、HGA の定量は、ヨウ素還元滴定法によった。

結果 (1) 精製酵素は pHPP に高い特異性を示したが、高濃度で基質阻害がみられた。(2) 本酵素作用は、EDTA で阻害され、金属酵素であろうと推定される。(3) 筒においても本酵素反応により pHPP から HGA の生成を認めた。