

Title	THE ROLES OF MICROSOMAL ELECTRON TRANSPORT SYSTEM IN LANOSTEROL DEMETHYLATION IN YEAST
Author(s)	Aoyama, Yuri
Citation	大阪大学, 1983, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/22988">https://hdl.handle.net/11094/22988</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名・（本籍）	あお 青	やま 山	ゆ 由	り 利
学位の種類	理	学	博	士
学位記番号	第	6 2 4 1	号	
学位授与の日付	昭和 58 年 12 月 13 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	ラノステロールの脱メチル化反応における酵母マイクロゾーム の電子伝達系の役割			
論文審査委員	(主査)			
	教授	佐藤	了	
	(副査)			
	教授	松原	央	教授 堀尾 武一 助教授 今井 嘉郎

### 論 文 内 容 の 要 旨

酵母には、肝臓に存在するのと同様のマイクロゾーム電子伝達系が存在するが、その機能に関しては、チトクローム  $b_5$  とシアン感受性因子を含む経路が脂肪酸やステロールの不飽和化反応に関与することが明らかにされているにすぎない。酵母のエルゴステロール生合成におけるラノステロールの  $14\alpha$  脱メチル化および  $4$  脱メチル化反応は、NADPH と  $O_2$  を要求しマイクロゾーム画分で触媒され、それぞれ CO およびシアンで阻害されると報告されている。これらの事実は、ラノステロールの脱メチル化にマイクロゾームの電子伝達系が関与する可能性を示唆するものである。本研究は、酵母マイクロゾームの電子伝達系の機能を明らかにする研究の一環として上記の可能性を解明することを目的として行なわれた。

酵母マイクロゾームから精製した P-450 の NADPH による酵素的還元は、ラノステロールによって著しく促進された。また、ラノステロールは P-450 に結合し I 型の基質差スペクトルを与えた。これらの事実は、ラノステロールが P-450 の基質であることを示唆するものである。ラノステロールを NADPH と  $O_2$  の存在下、酵母 P-450 および P-450 還元酵素より成る再構成系とインキュベートすると、 $14$  位で脱メチル化され  $14 \cdot 15$  位に二重結合が導入された代謝物、 $4, 4$ -ジメチル- $5\alpha$ -コレステ- $8, 14, 24$ -トリエノールが得られた。次に、酵母マイクロゾームを用い同様の条件下でラノステロールを代謝させると、ラノステロールは  $4, 4$ -ジメチル- $5\alpha$ -コレステ- $8, 14, 24$ -トリエノールを経由して  $4, 4$ -ジメチルチモステロールまで変換された。この反応は、P-450 に対する阻害剤や酵母 P-450 に対する抗体により阻害された。これらの諸事実から、酵母マイクロゾーム中の P-450 がラノステロールの  $14\alpha$  脱メチル化反応を触媒していることが明らかとなった。

酵母マイクロゾームによる  $4, 4$ -ジメチルチモステロールの  $4$  脱メチル化反応は低濃度のシアンで阻害

され、酵母のチトクローム  $b_5$  に対する抗体およびパルミトイルCoA の添加によっても阻害された。これらの事実は、4 脱メチル化反応にチトクローム  $b_5$  を経由する電子を利用するシアン感受性因子が関与することを示唆するものである。このシアン感受性因子は脂肪酸不飽和酵素とは異なるシアンに対する感受性を示し、両者は別の分子種であろうと考えられる。

以上の結果から、酵母マイクロゾームにおけるラノステロールの脱メチル化反応には、マイクロゾームに存在する二系列の電子伝達系が共同して関与しており、P-450 を含む経路は  $14\alpha$  脱メチル化に機能し、4 脱メチル化反応にはチトクローム  $b_5$  とシアン感受性因子を含む経路が関与することが結論づけられ、酵母マイクロゾームの電子伝達系が、ステロール生合成において重要な役割を演じていることを明らかにすることができた。

### 論文の審査結果の要旨

半嫌気条件下で生育した酵母 *Saccharomyces cerevisiae* のマイクロゾーム画分にチトクローム P-450 および  $b_5$  を含む電子伝達系が存在することが知られているが、その生理機能については僅かの知見しか得られていない。青山君はマイクロゾームを用いた研究および精製したチトクローム P-450 とその還元酵素を用いた研究にもとづいて次のことを明らかにすることに成功した。

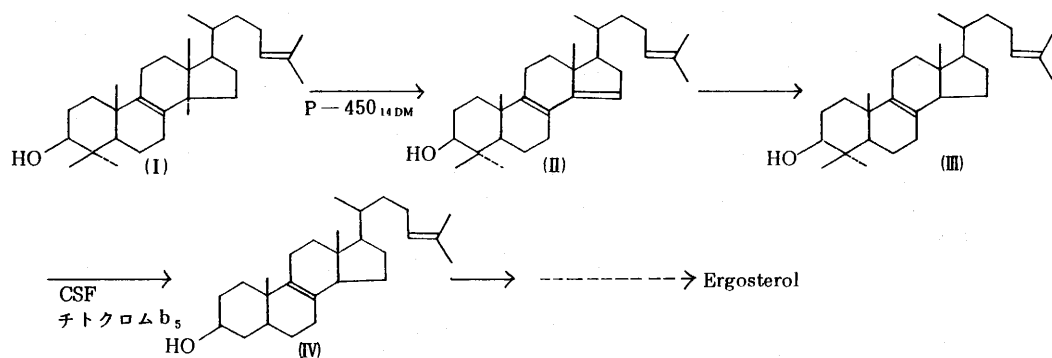
1) 酵母マイクロゾームから精製したチトクローム P-450 (P-450<sub>14DM</sub>) とその還元酵素を含む再構成系は NADPH と分子状酸素の存在下で lanosterol (I) の 4, 4-dimethyl-5 $\alpha$ -cholesta-8, 14, 24-trien-3 $\beta$ -ol (II) への転換を触媒する。

2) 半嫌気および好気条件下で生育した酵母マイクロゾームは NADPH と分子状酸素の存在下で lanosterol (I) を 4, 4-dimethylzymosterol (III) へ転換するが、この反応は P-450<sub>14DM</sub> に対する抗体によって強く阻害される。

3) 好気条件下で生育した酵母のマイクロゾームにチトクローム P-450 が存在するか否かは従来不明であったが、このマイクロゾームの還元型 CO 結合物の 2 次微分吸収スペクトルの測定からチトクローム P-450 が存在することを確認した。

4) 酵母マイクロゾームによる 4, 4-dimethylzymosterol (III) から zymosterol (IV) への転換は KCN およびチトクローム  $b_5$  に対する抗体によって強く阻害され、この反応に青酸感受性酵素 (CSF) とチトクローム  $b_5$  が関与していることを示す。

以上の知見にもとづいて、酵母の P-450<sub>14DM</sub>、CSF およびチトクローム  $b_5$  は ergosterol 生合成の途上の次の過程に関与していることを明らかにした。



この研究は従来ほとんど不明であった酵母マイクロゾームの電子伝達系の生理機能の一つを解明したものであって、理学博士の学位論文として十分価値あるものと認められる。