The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	肝ミクロゾーム滑面小胞膜構造の生化学的研究
Author(s)	伊藤, 明夫
Citation	大阪大学, 1968, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/29603
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【1】

氏名・(本籍)	伊藤明夫（いとうあきお）
学位の種類	理学博士
学位記番号	第 1343 号
学位授与の日付	昭和43年3月28日
学位授与の要件	理学研究科生物化学専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文名	**肝ミクロゾーム滑面小胞膜構造の生化学的研究**
論文審査委員	(主査) 教授 佐藤 了 (副査) 教授 奥貫 一男 教授 殿村 雄治 教授 萩原 文二

論文内容の要旨

生体膜の分子構造については，従来，電子顕微鏡，X線回折，偏光顕微鏡などを用いて研究されて来たが，これらの方法では膜の各成分（特に蛋白質）の質的な差を区別することが困難であるため，膜内における各分子の配列状態や結合状態はまだ十分明らかにされていない。この形態学的方法における難点を克服する一つの手段として，各種の加水分解酵素をメスとして膜系を解剖することを試みた。

肝ミクロゾームの滑面小胞は比較的単純な膜系であり，かつ酵素系についての知見も豊富なので膜系のモデルとして選んだ。

まず，プロテアーゼを作用させたところ，膜の蛋白質の約30%が膜から離れたところで反応が止ってしまった。この原因を調べたところ，小胞はプロテアーゼのような高分子が内部に入ることの出来ない半透性の袋で，プロテアーゼは小胞膜の外側にのみ作用していることがわかった。また，この結果，チトクロム b_5 や NADPH-チトクロム c 還元酵素が選択的に膜からはなれてくるので，これらの成分は小胞膜の外側に局在していると思われる。このことは膜における酵素分布の非対称性を示すものである。

次にフォスフォリパーゼCを作用させた。膜のリン脂質のうち，この酵素の基質となりうるリン脂質（全体の約60%）のほとんど全部が水解されたが，蛋白質は膜からはなれることがなく，電子顕微鏡で観察される三層構造も維持されていた。これらの事実は生体膜の構造に対するモデルとして現在広く認められている Danielli らのモデルでは説明が困難であり，何らかの修正の必要性を示している。

さらにフォスフォリパーゼA，リボヌクレアーゼT_1の作用からも2，3の知見を得た。

最後に，チトクロム b_5 を共有結合を切断しない方法で精製し，これと上に述べたようにプロテア

ーゼ処理で膜から離れてくるものとを比較することにより，この成分の膜内での結合状態を推定しようとした。界面活性剤を用いて精製されたチトクロム b_5 は分子量約120,000の会合物であるが，尿素により解離して25,000のモノマーを生ずる。このものにプロテアーゼを作用させると，ミクロゾームをプロテアーゼ処理してえられるものと同じ，分子量約12,000の分子がえられ，それとともに，会合しやすい性質はなくなる。これらの事実は，チトクロム b_5 は一つの分子内に，ヘムを含む親水部と膜構造との統合にあづかっている疎水部の2つの部分を含んでいることを示唆している。

論文の審査結果の要旨

本論文は，5部よりなっている。

第1部は，滑面小胞に対する蛋白分解酵素の作用を論じたものであって，ここでは使用する蛋白分解酵素の種類や濃度にかかわらず，すべての小胞から約30%の蛋白質が可溶化されたときに分解が停止すること，これに伴ってチトクローム b_5(cyt b_5) および NADPH-チトクローム c の還元酵素が選択的に可溶化されることを述べている。また密度勾配遠心法を巧みに利用して，デキストランのような高分子化合物は小胞の内部に入り得ないことを証明した。これらの知見から，ミクロゾーム滑面小胞は半透性の膜をもつ閉じた袋であって，cyt b_5 や NADPH- チクトローム c 還元酵素は小胞膜の外側の層に局在しているものと推定している。

第2部では，フォスフォリパーゼ C(PLase C) の滑面小胞に対する作用を検討し，小胞膜中のリン脂質の中でこの酵素によって作用を受け得るレシチンおよびスフィンゴミエリン（全リン脂質の約60%）はすべてそのフォスフォリルコリン基が切断されるが，蛋白質の可溶化は殆んど起らないことを確認した。これらの事実は小脂膜中のリン脂質の親水性基は外からの PLase C の攻撃を受け得る状態に存在することを示唆するものであって，膜構造に関する従来の「単位膜仮説」に再検討を要求するものである。

第3部および第4部は，それぞれフォスフォリパーゼAおよびリボヌクレアーゼ T_1 の滑面小胞に対する作用を論じたものであり，前者においてはフォスフォリパーゼA作用によって生じたリゾレシチンの界面活性剤としての作用が小胞の溶解を起す原因であることを，後者においては小胞膜中にはリボヌクレアーゼの作用を受け得ないＲＮＡが微量ながら含まれていることを明らかにしている。

第5部においては，ミクロゾーム小胞より cyt b_5 を主として界面活性剤の作用により可溶化精製し，これが従来蛋白分解酵素によって分離精製されたものと異なり，親水性の活性部分と疎水性の部分より成る特殊な蛋白質であり，小胞膜にはその疎水性部分において結合していることを明らかにした。

以上を要するに，伊藤君の業績は肝ミクロゾーム小胞膜の構造を多面的に検討し，多くの重要な知見を明らかにしたものである。これらの知見は生体膜の構造に対する従来の定説に再検討を要求するものであり，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。