



Title	ネズミ肝ミクロゾームのNADH-チトクロームc還元酵素系に関する研究
Author(s)	武居, 幸子
Citation	大阪大学, 1969, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/29729">https://hdl.handle.net/11094/29729</a>
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、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>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

氏名・(本籍)	武居幸子
学位の種類	理学博士
学位記番号	第 1610 号
学位授与の日付	昭和44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
学位論文題目	ネズミ肝ミクロゾームのNADH-チトクロームc還元酵素系に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 佐藤 了 (副査) 教授 萩原 文二 助教授 堀尾 武一

## 論文内容の要旨

動物組織のミクロゾームには電子伝達系として、NADHとNADPHを電子供与体とする二つの系が知られている。この内、NADPHを電子供与体とする系はかなり詳しく検討され、生理的にもNADPH-P-450系が薬物代謝に関与しているなどの知見が得られている。NADH系に関しては主反応として、NADH-チトクロームb<sub>5</sub>還元酵素とチトクロームb<sub>5</sub>よりなるNADH-チトクロームc系が知られており、それぞれの成分は一応は精製されてはいる。しかし、ミクロゾーム内におけるこの系の性質はあまり明確にされてはおらず、そのために、この系の生理的意義についての研究もおくれがちである。そこで、本研究は、このNADH-チトクロームc系を中心にして、ミクロゾーム内におけるNADHを電子供与体とする電子伝達系を明らかにする目的でおこなわれた。

まず、ミクロゾーム内のNADH-チトクロームc還元酵素を調べるために、この系の各成分の精製を試みた。チトクロームb<sub>5</sub>の精製については、他の人々によって、かなり詳しく検討されているので、その方法にしたがった。NADH-チトクロームb<sub>5</sub>還元酵素はStrittmatterらによって、酸沈したミクロゾームから、蛇毒を使用して、可溶化、精製されているので、この方法を利用したが、再現性が得られなかった。そこで、この方法を詳細に検討したところ、NADH-チトクロームb<sub>5</sub>還元酵素は、蛇毒によって可溶化されるのではなく、酸沈したミクロゾームに多量に混在していたリソゾームによって可溶化されることがわかった。このリソゾームによる可溶化はNADH-チトクロームb<sub>5</sub>還元酵素に対して特異的で、他の電子伝達系の成分であるNADPH-チトクロームc還元酵素及びチトクロームb<sub>5</sub>などは、ほとんど可溶化されなかった。

更に、リソゾームによるこの可溶化方法を利用し、セファデックスG-100及びDEAE-セルローズを使用して、この酵素を精製し、その性質を調べた。得られた酵素は、本質的には、Strittmatterらが蛇毒を利用して精製したものとほとんど同じであった。

次に、精製した NADH-チトクローム  $b_5$  還元酵素の抗体を作り、この酵素に特異的な阻害剤として利用し、精製標品とミクロゾーム内の電子伝達系に対するその効果を調べた。その結果、ミクロゾーム内の NADH-チトクローム c 還元酵素活性はすべて NADH-チトクローム  $b_5$  還元酵素を通っており、NADH-ferricyanide, NADH-2, 6-dichrolophenol indophenol, NADH-neotetrazolium 還元酵素活性等にも、この酵素が関与していることがわかった。

又、ミクロゾーム画分に加えて、ミトコンドリア画分に存在する NADH-チトクローム c 系についても、免疫学的検討をおこなった。特にミトコンドリア外膜はミクロゾームの NADH-チトクローム  $b_5$  還元酵素とチトクローム  $b_5$  を含む系をもつと云われているが、免疫学的にもミクロゾームと同じ結果を示した。この同一性はミクロゾーム膜とミトコンドリア外膜の形成という点で興味ある問題である。

以上、述べたように、ミクロゾームの NADH-チトクローム  $b_5$  還元酵素の可溶化時の挙動、精製標品の性質、その酵素に特異的な阻害剤である抗体の効果などをあわせて、ミクロゾーム内の NADH を電子供与体とする系について、詳細な検討をおこなった。

### 論文の審査結果の要旨

武居君の論文は、肝ミクロゾームの NADH-チトクローム  $b_5$  還元酵素（以下 NADH- $b_5$  酵素と略）に関するものであって、4部から成っている。

この酵素はすでにコブラ毒によって可溶化されることが報告されており、かつ均一状態まで精製されているが、武居君はその論文の第1部において可溶化条件を再検討した結果、この可溶化はコブラ毒によって起るのではなく、ミクロゾーム標品に混在しているリソゾームの酵素によることを明らかにした。またリソゾームによる可溶化は NADH- $b_5$  酵素に対してかなり特異的であることを示した。

第2部においては、このリソゾームによる特異的な可溶化を利用して従来より簡単な方法でこの酵素を精製することに成功し、かつこのようにして得られた精製標品が従来報告されているものと同じ性質をもつことを明らかにした。

第3部においてはネズミ肝から精製した NADH- $b_5$  酵素に対する抗血清をウサギにおいてつくることに成功した。この抗血清の  $\gamma$ -グロブリン画分は精製した NADH- $b_5$  酵素のみならず肝ミクロゾーム膜に結合した状態の酵素の NADH によるチトクローム  $b_5$  の還元を強く阻害した。チトクローム  $b_5$  の代りにフェリシアナイトなどの低分子化合物を電子受容体として用いたときにも阻害が見られるが、その阻害度はかなり弱い。この抗体は肝ミクロゾームの酵素に対してつくられたものであるが、副腎、心筋など多くの組織のミクロゾームの NADH-チトクローム c 還元酵素活性をも阻害することがわかった。種特異性もかなり広い。

第4部においてはネズミ肝ミトコンドリアの外膜を純粋に分離し、そこに存在する NADH-チトクローム c 還元酵素活性が上記抗体によって阻害されることを示した。このことはミトコンドリア外膜にもミクロゾームの NADH- $b_5$  酵素と免疫学的には同一のフラビン酵素が存在することを示すものであって、ミトコンドリア外膜の機能や起源について興味ある示唆を与えるものである。

以上のように、武居君の論文は肝ミクロソームの電子伝達系の重要成分である NADH- $b_5$  酶素の性質を明らかにした点および生体膜に局在する酵素の研究に免疫学的方法を導入した点において、理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。