The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	ミトコンドリアに存在するNADH-Cytochrome b5 reductaseに関する研究
Author(s)	古谷, 榮助
Citation	大阪大学, 1969, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/30066
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

【9】

氏名・(本籍)	古(ふる) 谷(や) 榮(えい) 助(すけ)
学位の種類	理　学　博　士
学位記番号	第　1862　号
学位授与の日付	昭和44年12月20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	**ミトコンドリアに存在する NADH-Cytochrome b_5 reductase に関する研究**
論文審査委員	(主査) 教授 萩原 文二 (副査) 教授 奥貫 一男　教授 佐藤 了

論文内容の要旨

NADH-Cytochrome b_5 reductase はミクロゾーム (Ms) に存在する酵素であるが，これがミトコンドリア (Mt) の外膜にも存在することが知られている。この Mt の外膜と Ms に存在する cyt b_5 reductase が全く同一のものであるかどうかという問題は Mt の外膜と Ms の関係を知る上に興味深いと考えられる。しかし Mt の cytob_5 reductase はまだ精製標品が得られておらず，従って，その酵素化学的性質も明らかでない。そこで本研究において Mt からこの cyt b_5 reductase を精製し，その酵素化学的性質を調べると共に，Mt の場合と同様にして精製された Ms の酵素との酵素化学的性質の比較，及び Mt Ms の外膜と Ms のcytochrome b_5 について分光学的性質の比較をおこなった。

まずブタ肝ぞうより Ms の混入を防いで調製した Mt を界面活性剤で処理することにより cyt b_5 reductase を可溶化した。これを硫安塩析，DEAE Sephadex カラムクロマト，ゲル沪過などの処理により Mt から約130倍に精製した。

精製標品の $Fe(CN)_6^{3-}$, cyt b_5, DCIP cyt cに対する反応速度の比は100：18：17：0.05であった。本酵素の活性は電子受容体をcyt b_5 とした時 Fe^{2+} キレート試薬によって著しく阻害される。このことより本酵素の反応に鉄が関与することが予想されるが，このことは ESR の実験によっても確かめられた。

次に Mt の reductase の場合と同じ方法によって Ms から cyt b_5 reductase を精製し，Mt の酵素との性質の比較をおこなった。種々の電子受容体に対する反応速度の比，及び km, pH の活性に及ぼす影響，阻害剤の影響など調べた範囲で両者の性質は全く同じであった。この結果より Mt の外膜と Ms には同一の cyt b_5 reductaseが存在すると結論される。

こうして cyt b_5 reductase については同一性がはっきりしたわけであるが，次にウサギ肝ぞ

うより Mt の外膜と Ms を調製し，この両者に存在する cyt b_5 の液体 N_2 温度における分光学的性質の比較をおこなった。これについては従来の報告でその相違が述べられていたが，本研究において reductase 同様に全く同一であることが明らかとなった。

Ms と Mt の外膜にこのように全く同じ成分が存在することはこの両者の膜の関連を知る上に手掛りを与えるものと考えられる。

論文の審査結果の要旨

NADH Chtochrome b_5 Reductase は Cytochrome b_5 とともに肝臓に多量に含有されて特殊な電子伝達系を構成しているが，その存在場所は古くより，Endoplasmic Reticulum すなわちミクロソーム画分であることが明らかにされ，両者ともにミクロソーム画分から抽出精製されている。しかし数年前から両成分がミトコンドリアにも存在することを強く示唆する報告が数編出されたが，これには反論がないわけではない。これは今迄の研究が間接的なものであったためで，これを確実に証明するには実際にミトコンドリアからこれらの成分を抽出単離する必要がある。

古谷君は界面活性剤の応用，硫安分別塩析，イオン交換クロマトグラフ，分子篩クロマトグラフなどの技術で，初めて，ミトコンドリアからの NADH-Cytochrome b_5 Reductase の抽出精製に成功し，そのミトコンドリア内での存在を確認した。さらに同君はこの精製標品の各種の生化学的性質を同じ方法でミクロソームから抽出精製した同一作用の酵素と比較し，両者が同一の酵素蛋白質であるらしいことを明らかにした。なお同君は上述の仕事に関連してミトコンドリア外膜の Cytochrome b_5 の分光学的な検討も行ない，この Cytochrome の分光学的な性質がミクロソームのものと異なるとの従来の報告が実験法の不備に由来するものであることを確かめ，適当な条件下での低温スペクトル（$-196°C$）を検討することにより，ミトコンドリアでもミクロソームでも Cytochrome b_5 の分光学的性質が全く同じであることを明らかにした。

同君の論文は以上のように未知であったところのミトコンドリアの Cytochrome b_5 の本体を明確にさせたもので，その貢献は大きい。この論文と参考論文の成績と合わせ考え，理学博士の学位論文として十分な価値があるものと認める。