



Title	ラット肝ミクロゾームのアスコルビン酸合成系
Author(s)	中川, 英彦
Citation	大阪大学, 1972, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/30681
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

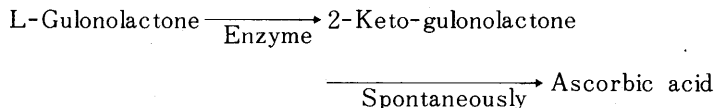
<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名・(本籍)	なか 中	がわ 川	ひで 英	ひこ 彦
学位の種類	理	学	博	士
学位記番号	第	2480	号	
学位授与の日付	昭和47年3月25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	ラット肝ミクロゾームのアスコルビン酸合成系			
論文審査委員	(主査) 教授	佐藤	了	
	(副査) 教授	松原	央	教授 福井 俊郎

論文内容の要旨

ヒト、サル、モルモットを除く高等動物の肝臓ミクロゾームに局在しているグロノラクトンオキシダーゼは、アスコルビン酸合成に関与する酵素系の末端酵素で、次の反応を触媒する。



グロノラクトンオキシダーゼに関しては、これまで広く研究されてきたが、可溶化、精製が困難なために、その酸化還元に関与する本体については、殆んど明らかにされていない。

グロノラクトンオキシダーゼは、トリプシン処理をしたラット肝ミクロゾームより、中性界面活性剤であるエマゾール1130により、効率的に可溶化される。可溶化した酵素は、硫安分画、Sephadex G-150, DEAE-Sephadex A-50, により80~100倍に精製された。精製酵素は、オキシダーゼ活性の他に、グロノラクトンデヒドロゲナーゼ活性、グルクロノラクトンレダクターゼ活性を含み、この段階まで、それらは平行して精製された。他の知見ともあわせ、これら三者は同一蛋白に由来する活性であると推定される。

一方精製した酵素は、基質であるグロノラクトンにより450nm付近が還元され、その吸収スペクトルはフラビンに類似していた。しかし、短波長測(370~380nm付近)には還元される吸収はなく、またこの色素は酸性硫安処理、トリクロル酢酸処理でも遊離してこない。この色素は、精製酵素をプロナーゼ処理(27°C 15hv)することにより、はじめて遊離型となり、NaBH₄による還元一酸化差スペクトルは、350nm, 450nm に谷を示し、フラビンであることを示唆した。更にこの色素を、Florisol クロマト、paper クロマトを用いて精製した。精製した色素は、吸収スペクトル、蛍光スペクトル、励起スペクトルからフラビンであると結論された。これらの結果は、グロノラクトンオキシダーゼは、

基質であるグルノラクトンにより還元されるフラビンを補欠分子族として持っており、それは蛋白に共有結合で結合していることを示した。この種のフラビンは現在まで、ミトマンドリア内膜のこはく酸脱水素酵素と外膜のアミン酸化酵素において知られているに過ぎない。この2つの酵素に由来するフラビンとの相違についても種々議論した。

論文の審査結果の要旨

霊長類とモルモットを除く哺乳動物におけるアスコルビン酸の生合成は肝において行なわれ、それに関与する酵素はミクロゾーム画分に局在する。中川君の論文はラット肝ミクロゾームに局在し、アスコルビン酸生合成の最終段階を触媒するグルノラクトンオキシダーゼ（以下GOと略す）の精製とその補欠分子族の性質に関するものである。

中川君はまずGOのミクロゾーム膜からの可溶化条件を検討し、それがプロテアーゼ、ホスホリパーゼ、有機溶媒処理などによって可溶化されず、界面活性剤（とくに中性界面活性剤）によって効率よく可溶化されることを見出し、この知見にもとづいて、GOを約80%の純度にまで精製する方法を確立した。この精製操作に際して、グルノラクトンオキシターゼ活性のほか、グルノラクトンデヒドロゲナーゼ活性およびグルクロノラクトン還元酵素活性もほぼ同率に精製されることから、これら三つの活性は同一の酵素蛋白質に結合している可能性が高いと考えられる。

精製したGO標品に基質であるL-グルノ- γ -ラクトンを添加すると450nm附近に谷をもつ差スペクトルが得られ、このスペクトル変化を起す色素がGOの補欠分子族であることを示す証拠が得られた。この色素は酸性硫酸処理やトリクロール酢酸処理では酵素蛋白質から遊離せず、プロナーゼ処理によってはじめて遊離することから、共有結合で蛋白質に結合しているものと考えられる。中川君はプロナーゼ処理で遊離した色素を精製したものについて、吸収スペクトルおよび蛍光スペクトルを検討した結果、それがフラビンペプチドであることを明らかにしたが、従来コハク酸デヒドロゲナーゼおよびモノアミノキシダーゼから得られているフラビンペプチドとは若干異なる性質をもつことを示した。

以上のように、中川君の業績は、哺乳動物におけるアスコルビン酸生合成酵素系の末端酵素の性質を明らかにしたばかりでなく、従来上記二例より知られていなかった共有結合で結合したフラビンの存在に第三の例を示したものとして重要である。よって、この論文は理学博士の学位に十分価するものと判定する。