

Title	酵母のミクロソームに存在するチトクロームの脂質代謝への役割
Author(s)	大場, 雅行
Citation	大阪大学, 1978, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32103
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【 3 】

氏名・(本籍)	大 場 雅 行
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 4 2 0 6 号
学位授与の日付	昭 和 53 年 3 月 25 日
学位授与の要件	理学研究科 生理学専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	酵母のミクロソームに存在するチトクロームの脂質代謝への役割
論文審査委員	(主査) 教授 佐藤 了 (副査) 教授 堀尾 武一 教授 松原 央

論 文 内 容 の 要 旨

酵母ミクロソームに存在するチトクローム, b_5 と P-450, の生理的な役割を, 変異株及び抗体を用いた実験で調べた。

- (1) δ -aminolevulinatc (ALA) 合成酵素が欠損した酵母変異株 Ole3 は, 培地に ALA を加えるか Tween80 と Ergosterol (TE) を加えた培地で正常な成長を示す。TE を加えた培地で成育させた Ole3 のミクロソームには b_5 , P-450, NADH-チトクローム c 還元活性, 及び palmitoyl-CoA の不飽和化活性が同時に消失していた。しかし, 他のミクロソームの活性は変化していなかった。この消失した活性は培地に ALA を加えてゆく事により回復し, この回復は ALA 濃度に依存し, チトクロームの量に比例していた。
- (2) 野性株酵母ミクロソームのもつ不飽和化活性は b_5 に対する抗体により特異的に阻害された。
- (3) Ole3 株における不飽和化活性の変動と同じ挙動が Lanosterol の 4 位メチル基の脱メチル化活性でも見られ, その活性はミクロソームのチトクローム量に比例して変化した。
- (4) 野性株酵母ミクロソームの脱メチル化活性は, 一酸化炭素により弱く, KCN, チトクローム c, ビタミン K_3 により強く阻害された。酵母の P-450 に対する抗体はこの活性を特異的に阻害した。
- (5) 上述の脱メチル化活性の変動を, ステロール代謝のガスクロマトグラフィによる分析と合わせて検出した結果, この脱メチル化の反応が数ステップを含む反応であることがわかった。その中で, 抗 P-450 抗体は lanosterol の 4.4-dimethylsterol への変換を, KCN は 4.4-dimethylsterol の 4-monomethylsterol への変換をそれぞれ阻害した。
- (6) ウサギの b_5 をヘム欠損の Ole3 株からとったミクロソームに効率よく結合させることができ,

NADH-チトクローム c 還元活性を *in vitro* で回復させることができた。しかし、消失した不飽和化活性はほとんど回復しなかった。

(7) 上述の様な b_5 分子の種による差は、免疫的に動物の b_5 と酵母の b_5 が異なることにより確かめられた。

以上により、半嫌気酵母のミクロソームに存在する 2 種のチトクローム、 b_5 と P-450、が前者が脂肪酸の不飽和化に、後者が lanosterol の脱メチル化反応にそれぞれ関与していることが明らかになった。

論文の審査結果の要旨

酵母のミクロゾームには動物の肝細胞ミクロゾームのものと類似の電子伝達系があり、2 種のチトクローム、すなわち b_5 と P-450、が含まれている。しかし、これら酵母のチトクロームの生理的役割については必ずしも明らかとなっていない。大場君の研究はヘム合成能を欠損し、したがってヘムの前駆体である δ -アミノレブリン酸 (δ ALA) を培地に添加しなければチトクロームを合成し得ない突然変異株 (Ole3 株) と酵母の b_5 と P-450 に対する抗体とを主要な手段とすることによって、これらのチトクロームが脂質代謝に重要な役割を果たしていることを明らかにしたものである。

すなわち、Ole3 株は培地に δ ALA を加えないと、チトクロームを合成し得ないばかりでなく、不飽和脂肪酸とエルゴステロールを生育のために要求するが、このことはチトクロームが不飽和脂肪酸とエルゴステロールの生合成に関与していることを示唆するものである。培地に δ ALA を加えるとチトクローム b_5 と P-450 が合成されるが、それとともに脂肪酸不飽和化活性とラノステロールの脱メチル化活性 (エルゴステロール生合成の一段階) はともにミクロゾームのチトクローム含量に比例して回復してくることを見出した。また酵母ミクロゾームの不飽和化活性は b_5 抗体によって阻害されることを明らかにした。これらのことは b_5 が不飽和脂肪酸合成に関与していることを示すものといえる。一方 P-450 抗体はラノステロールの脱メチル化活性を阻害することから、P-450 はエルゴステロール生合成に関与していることが示された。さらに酵母ミクロゾームによるラノステロール代謝産物の生成に対する P-450 抗体や KCN の影響をラジオガスクロマトグラフィーで調べた結果、ラノステロールの 14 位のメチル基の酸化的脱離がまず起こり、この反応に P-450 が関与していること、次に 4 位の 2 つのメチル基の脱離が起こるが、この段階は KCN 感受性であることなどが明らかとなった。

これらの知見は、従来不明であった酵母ミクロゾームの 2 種のチトクロームの生理的役割の一端を解明したものであり、脂質生化学の面からもヘム蛋白質の機能の面からも重要な貢献である。よって本論文は理学博士の学位に十分値するものと認める。