

Title	ラット肝ミクロゾームのスクワレンのエポキシ化反応
Author(s)	中村, 正彦
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/32168">https://hdl.handle.net/11094/32168</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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> をご参照ください。

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

氏名・(本籍)	中 村 正 彦
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 4 5 3 6 号
学位授与の日付	昭 和 54 年 3 月 24 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	ラット肝マイクロゾームのスクワレンのエポキシ化反応
論文審査委員	(主査) 教 授 佐 藤 了 教 授 堀 尾 武 一 教 授 松 原 央

### 論 文 内 容 の 要 旨

肝マイクロゾームのコレステロール生合成系において、スクワレンがオキシドスクワレンに変換する反応(epoxidation)はNADPH, 酸素および肝可溶性画分中の活性化因子(蛋白質と酸性リン脂質)を要求する反応であることが知られており、次のような点で大変興味ある反応系である。①NADPH, 酸素を要求する反応であるが、チトクロームP-450の阻害剤である一酸化炭素によってエポキシ化反応は阻害されない。②マイクロゾームにおける反応は可溶性画分中の蛋白質を必要とする。③可溶性画分中のもう一つの活性化因子はある特定のリン脂質である。

まずNADPHからの電子の受容体について検討する目的で肝マイクロゾームに存在するNADPH-Cyt. c還元酵素(以下 $fp_2$ )に注目した。反応系へのCyt. cおよびCyt. オキシダーゼの添加, 熱処理, トリプシン消化による $fp_2$ の選択的な可溶化,  $fp_2$ 抗体による阻害, 等とこれら全てマイクロゾームの $fp_2$ 活性を低下させるが, これに伴ってスクワレンのエポキシ化活性も減少する。このことから $fp_2$ がエポキシ化反応に関与していることが明らかになった。エポキシ化反応は精製した $fp_2$ だけではおこらないことから, さらにterminal oxidaseが存在すると考えられる。

次に可溶性画分中の活性化因子としての蛋白質(以下SPF)を部分精製した。この蛋白質はスクワレンや反応生成物のステロールと全く結合しないことから, 近年Scallen, Dempseyらが唱えているような“Sterol Carrier Protein”はこの反応系には関与していないものと考えられる。また得られたSPFには可視部領域に吸収帯がみられないことから, 酸化還元酵素で見られるようなヘムやフラビンを持った蛋白質ではないことがいえる。この蛋白質の機能を探る目的で, 酸性リン脂質としてホスファチジル・イノシトールを用いて, 基質として用いたスクワレン・Tween80ミセルからマイクロゾーム

へのスクワレンのエポキシ化の二つの段階に反応をわけて、これら二つの活性化因子の役割を調べた。スクワレンはホスファチジル・イノシトール（以下PI）が存在することによって始めてマイクロゾームに結合するが、このようにして結合したスクワレンは、その後SPFを添加しても、ほとんどエポキシ化されない。PIとSPFが共存するとき、マイクロゾームへのスクワレンの結合はSPFの量に依存して増え、この条件下で結合したスクワレンは効率良くエポキシ化を受ける。またこの反応時にはPIの存在は不要である。SPFだけではこのようなスクワレンの結合は見られない。これらの結果から、PIはスクワレンを結合させるためには、SPFが共存することが必要と考えられる。

さらに肝ホモジェネートでメバロン酸から生合成されたスクワレンは、そこから得られたマイクロゾームに存在していて、このようなスクワレンは、SPFを添加することによって効率良くエポキシ化を受ける。従ってスクワレンのエポキシ化反応でみられるリン脂質の効果は電子伝達系で良くみられるような、膜酵素の電子伝達の効率を高めるようなものでなく基質がミセルからマイクロゾームへ移行する段階に関与しているだけである。可溶性画分中の蛋白質は膜の特定部位への基質の移行および触媒部位での反応の促進に関与していると考えられる。また近年、脂溶性物質の代謝に関与している膜酵素の中で、可溶性画分の蛋白質を要求するものが見つかってきており、この種の蛋白質は脂溶性物質の代謝になんらかの関係があるものと推察される。この種の膜酵素の反応機構の解明にスクワレンエポキシ化反応は有効な系であると考えられる。

### 論文の審査結果の要旨

スクアレンの2,3-オキシドスクアレンへの変換（エポキシ化）はコレステロール生合成の一段階であり、肝マイクロゾームによって触媒されるが、この反応にはNADPH、分子状酸素、肝細胞可溶性画分中のタンパク質（SPFと呼ぶ）および酸性リン脂質が必要である。またマイクロゾーム中のNADPH-チトクロムc還元酵素と本体不明のエポキシダーゼがこの反応に関与していることが報告されているが、その詳細は不明であり、特にSPFと酸性リン脂質の役割については全く知られていない。

中村君はまずチトクロムcおよびエピネフリンによる阻害、トリプシンによるマイクロゾームからのNADPH-チトクロムc還元酵素の選択的可溶化による阻害、この還元酵素に対する抗体による阻害等の観察から、エポキシ化反応にNADPH-チトクロムc還元酵素が関与していることを確証した。ついで可溶性画分からSPFを部分精製し、これがスクアレンやステロールと結合せず、従ってScallenらのsterol carrier proteinとは異なるものであることを示した。さらにスクアレンがエポキシ化を受けるためには、まずそれがマイクロゾームに結合することが必要であることを明らかにし、この結合と結合したスクアレンのエポキシ化に対するSPFと酸性リン脂質（ホスファチジル・イノシトール、PIを用いた）の役割を研究した。その結果、結合はPIのみの存在下でも起こるが、このようにして結合したスクアレンはその後SPFなどを添加しても殆んどエポキシ化されないこと、しかしPIとSPFの共存下で結合したスクアレンは効率よくエポキシ化を受けること、そしてこの反応にはPIは不要であ

るがSPFの存在は必要であることなどを明らかにすることができた。従ってPIはエポキシ化そのものには不要であり、基質をマイクロゾームの特定部位へ結合させるのに関与しているが、SPFは結合とエポキシ化の両過程に必要であると結論できる。

以上のように中村君の業績はスクアレンのエポキシ化反応について従来不明であった多くの点を明らかにしたものであり、理学博士の学位に十分値するものであると認められる。