



Title	ラット肝のアルデヒド脱水素酵素について
Author(s)	中安, 博司
Citation	大阪大学, 1980, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32627
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)	中 安 博 司
学 位 の 種 類	理 学 博 士
学 位 記 番 号	第 4 8 6 9 号
学位授与の日付	昭 和 55 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	ラット肝のアルデヒド脱水素酵素について
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

アルデヒド脱水素酵素は、 NAD(P)^+ を補酵素とし、アルデヒドのカルボン酸への変換を触媒する酵素である。本酵素は、高等動物肝において多様な細胞内分布を持つことが知られていたが、それらの相互関係についての知見は不十分であった。ラット肝においては、細胞質、ミトコンドリアのマトリックス及び外膜、そしてミクロゾーム膜にそれぞれ本酵素の活性が認められる。これらのうち、ミクロゾームとミトコンドリア外膜の酵素は膜結合酵素であり、細胞質とミトコンドリアマトリックスに局在する酵素は可溶性酵素である。

まず、ラット肝ミクロゾームから膜結合型の本酵素の精製を行なった。コール酸を用いて可溶化を行なったのち、アミノヘキシルセファロース、及び5'-AMPセファロースのカラムクロマトグラフィにより約100倍まで精製し、ゲル電気泳動的に単一の標品を得た。精製標品は、界面活性剤を除去した場合、沈降定数54Sという巨大な会合体として存在し、界面活性剤の添加により分散してゆくという典型的な膜結合蛋白質の性質を示した。

精製標品をウサギに注射したのち得た特異抗体は、ミクロゾーム酵素と寒天ゲル内で沈降線を形成し、かつ酵素活性を強く阻害した。しかし、細胞質及びミトコンドリアマトリックス画分の二種の可溶性酵素はこの抗体と沈降線を形成せず、抗体による活性阻害もみられなかった。さらに、可溶性酵素は、鎖長の異なる一連の直鎖脂肪族アルデヒドに対する基質特異性の面でも、膜結合酵素とは異なる結果を与えた。これらのことにより、ミクロゾーム膜結合酵素は、二種の可溶性酵素とは明らかに別種の酵素であることが示された。しかしながら、ミトコンドリア外膜の酵素活性は上記の抗体で強く阻害され、両膜結合酵素の類似性が示唆された。

この両者の異同をさらに明確にする目的で、ラット肝ミトコンドリア外膜酵素の精製を行なった。ミクロゾーム膜酵素とほぼ同様な方法を用いて、外膜から約 330 倍に精製し、ゲル電気泳動的に単一の標品を得た。ミクロゾーム及びミトコンドリア外膜より得た精製標品は、サブユニットの分子量、アミノ酸組成、BrCN 分解やプロテアーゼ消化で生じるフラグメントの組成、精製標品の比活性、基質特異性、阻害剤の効果などの点で、極めて類似していた。しかしながら、両精製標品は免疫化学的にわずかの差を示し、また等電点泳動においても差異がみられた。

これらの事は、肝細胞のミクロゾーム膜とミトコンドリア外膜とに、極めて類似した構造を持ちながら分子の一部の構造を異にする本酵素が独立に局在することを意味し、生体膜の形成機構を考えるうえで興味深い。

論文の審査結果の要旨

高等動物の肝細胞においてアルデヒド脱水素酵素活性は細胞質、ミクロゾームおよびミトコンドリア（マトリックスおよび外膜）に検出されるが、これまでに細胞質の酵素が精製されているだけであるため、細胞内分布を異にするアルデヒド脱水素酵素の相互関係については不明の点が多かった。

中安君はラット肝ミクロゾームの膜結合性アルデヒド脱水素酵素を可溶化し、これを高収率で均一に精製する方法を開発し、その性質を明らかにした。またこの酵素をウサギに注射して、それに対する特異抗体を得た。この抗体はミクロゾーム酵素の活性を強く阻害し、かつ寒天ゲル内でこの酵素と沈降線を形成するが、細胞質およびミトコンドリアマトリックスの酵素の活性を阻害せず、またそれらと沈降線を形成しない。さらに後二者は炭素鎖の長さを異にする脂肪族アルデヒドに対する基質特性においてもミクロゾーム酵素とは異なる挙動を示した。したがって、ミクロゾームの酵素は細胞質およびミトコンドリアマトリックスの酵素とは異なることは明らかである。しかし、ミトコンドリア外膜に結合している酵素は上記の抗体によって強く阻害されるので、ミクロゾームの酵素の類似していると思われた。

この点をさらに検討するために、ミトコンドリア外膜からアルデヒド脱水素酵素を均一にまで精製し、これとミクロゾームからの精製酵素との比較を行なった。その結果、両者は分子量、アミノ酸組成、ペプチドマップ、触媒活性、基質特異性などの点でほとんど区別できないが、両者は免疫学的性質、水溶液中での分散状態、等電点泳動における挙動において僅かではあるが、有意の差を示した。したがって、両者はきわめて類似した構造をもちながら、分子の一部の構造を異にするものと結論された。

以上のように中安君の業績は従来不明の点の多かった肝細胞内の局在性を異にするアルデヒド脱水素酵素の相互関係に新しい知見を加え、またミクロゾームとミトコンドリア外膜に僅かに構造を異にする酵素が存在することを示したものであり、これら膜酵素の生合成と膜への組み込みに重要な示唆を与えるものである。よってこの研究は理学博士の学位論文として十分に価値あるものと認められる。