



Title	シトクロームb5に高い親和性を示すシトクロームP-450分子種の精製と性質
Author(s)	三木, 伸士
Citation	大阪大学, 1980, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32655
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)	三 木 伸 士
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	第 4 9 0 1 号
学位授与の日付	昭 年 55 年 3 月 25 日
学位授与の要件	医学研究科 生理系専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学 位 論 文 題 目	シトクローム b_5 に高い親和性を示すシトクローム P-450 分子種の精製と性質
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 山野 俊雄 (副査) 教 授 萩原 文二 教授 和田 博

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

シトクローム P-450 (以下 P-450) は種々の薬物水酸化反応を触媒する一原子酸素添加酵素である。兔肝ミクロソームには数種の P-450 の存在が知られており、近年それらのうち 3 種類の P-450 が単離精製されている。しかし P-450 の作用の多様性、シトクローム b_5 (以下 b_5) との相互作用の存在の可能性から考えてなお未知の P-450 分子種の存在が予測される。

著者は、固定化 b_5 を用いたアフィニティークロマトグラフィー法により未処理兔肝ミクロソームより従来報告されていない P-450 分子種の分離精製を試みた。

〔方法ならびに成績〕

1) b_5 の固定化

BrCN で活性した Sepharose 6B ゲル 1 ml 当り約 100 nmol の b_5 (トリプシン可溶化型) を固定化した。得られた固定化 b_5 は 4℃ 保存下で少なくとも 1 年間安定でくり返し使用可能であった。

2) P-450_{B₁} の精製

未処理兔肝ミクロソーム画分より部分精製した P-450 標品を固定化 b_5 上にクロマトグラフィーを行なって得られた標品をさらに CM-Sephadex カラムクロマトグラフィーにより精製標品 (P-450_{B₁}, 比含量 15 nmol/mg prot) を得た。

3) P-450_{B₁} の性質

標品は SDS-ゲル電気泳動的に均一であり分子量は 52,000 と算定され P-450₁ あるいは P-448₁ とは移動度の異なったシトクローム P-450 であることが示された。酸化型 P-450_{B₁} は吸収極大を 567,

533および417nmに持ちまた電子スピン共鳴は g 値を1.91, 2.24および2.40に示し低スピンヘムたんぱくであることがわかった。一酸化炭素結合型の吸収は551と449nmに極大を示した。還元型P-450_{B₁}とフェニルイソシアナイド複合体は549, 454および429nmに吸収極大を示した。還元型フェニルイソシアナイド複合体と還元型との差スペクトルの454と429nmの比は0.3M K-PB(pH 7.4)において6.5であった。

4) P-450_{B₁} と b_5 との相互作用

一定量固定化 b_5 へのP-450_{B₁}の吸着量は混液中に共存する b_5 により低下した。またこの吸着容量の低下はデタージェント可溶化型 b_5 を用いた時、特に顕著に認められた。

5) P-450_{B₁}の薬物酸化活性

精製P-450_{B₁}標品は、ベンツフェタミン、アミノピリン、アニリン等の薬物酸化反応において活性を示しエトキシレゾルフィンには不活性であった。また p -ニトロアニソール O -脱メチル化活性には b_5 , NADPH-P-450還元酵素, NADH- b_5 還元酵素の共存が必要であった。

〔総括〕

- 1) はじめて b_5 を固定化し、新しいP-450分子種を簡便かつ収率よく分離精製した。
- 2) 精製標品P-450_{B₁}の物理的・化学的諸性質を明らかにした。
- 3) P-450_{B₁}と b_5 間に強い相互作用の存在することが示された。
- 4) P-450_{B₁}の水酸化活性には従来のP-450分子種に見られない特徴が見出された。

論文の審査結果の要旨

最近シトクロムP-450 (P-450) に分子多様性の存在が知られるようになったが、著者はシトクロム b_5 をリガンドにするアフィニティカラムを用いてP-450の新しい分子種を見出した。このP-450は、物理的、化学的諸性質、生化学的活性からしらべて、今まで知られているフェノバルビタール、3メチルコラントレンなどによって誘導されるP-450とは異なっていることが明らかにされた。さらにシトクロム b_5 と高い親和性を示すことも明らかになり、今後のミクロソームの電子伝達と生理機能との関係の研究に寄与するところ大きいと期待される。