The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

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

【18】

氏名・(本籍)	三木伸士（みきのぶお）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 4901 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。兎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兎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_{B_1}の精製

未処理兎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_{B_1}，比含量 15 nmol/mg prot）を得た。

3）P-450_{B_1}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-450_1あるいはP-448_1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_{B_1}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$_{B_1}$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$_{B_1}$とb_5との相互作用

一定量固定化b_5へのP-450$_{B_1}$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$_{B_1}$の薬物酸化活性

精製P-450$_{B_1}$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$_{B_1}$の物理的・化学的諸性質を明らかにした。

3）P-450$_{B_1}$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$_{B_1}$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。