

Title	肝ミクロゾーム水酸化酵素系の再構成と反応機構
Author(s)	谷口, 寿章
Citation	大阪大学, 1981, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32731
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

【 4 】

氏名・(本籍)	谷 口 寿 章
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 5 1 8 6 号
学位授与の日付	昭 和 56 年 3 月 25 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	肝ミクロゾーム水酸化酵素系の再構成と反応機構
論文審査委員	(主査) 教 授 佐藤 了 (副査) 教 授 殿村 雄治 教 授 堀尾 武一

論 文 内 容 の 要 旨

肝ミクロゾームの主要な役割の一つに生体外異物を水酸化し、体外に排泄する形にする活性がある。近年、膜蛋白質の精製技術の進歩にともない、水酸化酵素の本体である、チトクロムP-450と、それに電子を供給する電子伝達系の各構成成分が単離精製されるようになった。我々は、薬物で誘導処理したウサギ肝ミクロゾームより3つの電子伝達系成分とチトクロムP-450を同時に単一分離・精製する技法を開発し、精製成分を再びリン脂質のリポームに結合させ、水酸化活性を再構成することに成功した。再構成系は種々の組み合わせで作ることが可能で、初めて電子伝達系の水酸化酵素系における役割の詳細な解析が可能となった。

ストップフロー法による各成分間の電子伝達速度の直接測定、および水酸化反応に及ぼす、各成分の影響を調べることにより、水酸化反応に必要な2個の電子のうち、一番目に導入されるものは、NADPH-チトクロムP-450還元酵素から、2番目のものはチトクロム b_5 から供給されることを明らかにした。二つの電子伝達系(NADPH-チトクロムP-450還元酵素と、NADPH-チトクロム b_5 還元酵素-チトクロム b_5 系)の間に、このような機能分担があることがこのことから分かった。

また、リン脂質の相転移が及ぼす影響について調べた結果から、これら三つの電子伝達成分、及びチトクロムP-450は膜上を自由に移動し、自由衝突することにより電子伝達が行われることを明らかにした。またリン脂質の相転移はP-450のスペクトル、活性にも影響を及ぼし、リン脂質がP-450のコンフォーメーションに影響を与えているということが分かった。このように、リン脂質は、電子伝達系成分がチトクロムP-450と均率よく反応する足場を提供し、その流動性によって反応を制御するとともに、膜蛋白質のコンフォーメーションにも影響を与えていることが見出された。さらに脂質は

その相分離によって、電子伝達系の局在にも影響を与えていることが示唆された。

論文の審査結果の要旨

肝細胞ミクロゾーム膜にはチトクロムP-450(以下P-450)を末端酵素とする酵素系が存在し、NADPH(NADH)に由来する2個の電子と分子状酸素を用いて薬物、化学発がん剤などの水酸化を行っている。谷口君はこの重要な反応の機構を明らかにするため、ミクロゾームから均一に精製したこの酵素系の成分タンパク質をリン脂質小胞膜に結合させることによって、水酸化活性を再構成することに成功した。またこの再構成系を用いて次の点を明らかにした。

この系にはP-450のほかNADPH-チトクロムP-450還元酵素(以下 fp_2)、NADH-チトクロム b_5 還元酵素(以下 fp_1)およびチトクロム b_5 (以下 b_5)が関与しているが、これらの種々な組み合わせで再構成したものを用いて、NADPHおよびNADHからP-450までの各電子伝達反応の速度をストップ・フロー法で測定した。その結果、水酸化反応に必要な2個の電子のうちの最初の電子はNADPHおよびNADHのいずれからも fp_2 を経てP-450に導入されるが、第2の電子は b_5 が存在するときには b_5 を経て導入されることが明らかとなった。

次に明確な相転移点を示す合成リン脂質ジミリスチルレミチン(DMPC)に fp_2 とP-450を結合した系におけるNADPHによるP-450の還元(第1の電子の導入)速度の温度依存性を調べ、この速度のArrheniusプロットがDMPCの相転移点(23~24℃)付近で不連続性を示すことを見出したが、このことは fp_2 とP-450の間の電子授受が両タンパク質の膜上での拡散とそれに伴う自由衝突によることを示す。

最後に、P-450の吸収スペクトルの温度変化の解析から、P-450のコンホメーションがリン脂質への結合によって影響を受け、とくにDMPCの相転移によって大きな影響を受けることを見出した。

以上のように、谷口君の研究は、薬物代謝や化学発がんに関連して近年とみに重視されてきた肝ミクロゾームの水酸化酵素系の反応機構にいくつかの重要な寄与を行ったものであり、理学博士の学位に十分価するものと判断される。