

| | |
|--------------|---|
| Title | 薬物未処理ラット肝ミクロソームよりラノステロール 14 α 脱メチル化活性を持つチトクロームP-450の精製 |
| Author(s) | 岩崎, 正彦 |
| Citation | 大阪大学, 1986, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/35204 |
| 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

【 2 】

| | |
|---------|--|
| 氏名・(本籍) | いわ 崎 まさ 彦 |
| 学位の種類 | 理 学 博 士 |
| 学位記番号 | 第 7 1 6 8 号 |
| 学位授与の日付 | 昭 和 61 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 | 薬物未処理ラット肝ミクロソームよりラノステロール14 α 脱メチル 化活性を持つチトクロームP-450の精製 |
| 論文審査委員 | (主査) 教授 佐藤 了 (副査) 教授 堀尾 武一 教授 松原 央 |

論 文 内 容 の 要 旨

コレステロール生合成の中間体であるラノステロール(Lano)は肝ミクロソームにおいて14 α 位のメチル基を酸化的に脱離して、4,4-ジメチルチモステロール(DMZym)に変わる。この脱メチル化反応にチトクロームP-450(P-450)が関与していることはミクロソームを用いた実験から示唆されていたが、その分子種は不明であった。肝ミクロソームには多種類のP-450が存在するので、Lanoの14 α 脱メチル化活性を指標とし、この反応に関与するP-450(P-450_{L14 α})を精製した。精製は薬物未処理のラット肝ミクロソームをコール酸で可溶化し、アミノオクチルセファロース、室温DE-52, CM-セファロース、ヒドロキシアパタイトのカラムなどにより行った。得られた最終標品はSDS電気泳動で単一のバンドを与え、分子量は55,000と推定された。P-450の収率は可溶化ミクロソームから約0.04%であり、活性はアミノオクチルセファロース溶出画分の約10%が回収され、P-450当りの比活性は35倍となった。このことはP-450_{L14 α} が肝ミクロソームP-450の微量成分であることを示している。P-450_{L14 α} は酸化型では低スピン型の吸収スペクトルを示し、還元型のCO差スペクトルは448nmに極大をもつ。Lanoの14 α 脱メチル化は化学式の上では3段階の酸化反応により進行するが、肝ミクロソームでは最初の水酸化のみがP-450により触媒されるとの説が提唱されていた。そこで、P-450_{L14 α} およびNADPH-P-450還元酵素の精製標品より成る再構成系を用いてLanoを代謝させ、代謝産物を分析したところ、4,4-ジメチル-5 α -コレスタ8,14,24-トリエン-3 β -オールを生ずることが判った。すなわち、3段階の反応すべてをP-450_{L14 α} が行い脱メチル化に至ることが明らかとなった。Lano14 α 脱メチル化反応の特異的阻害剤であるブチオベイトは低濃度(10⁻¹⁰~10⁻¹¹M)でP-450_{L14 α} の触媒する反応を阻害し、また、II型の差スペクトルを与える。一般にP-450で

代謝される薬物を基質として活性を調べたところ、アミノピリン以外は代表的な薬物はいずれも代謝されなかった。これは従来精製されている肝ミクロソームP-450には見られないP-450_{L14 α} の特性である。ミクロソームではLanoの14 α 脱メチル化により生じた4,4-ジメチルコレステール-5 α -トリエン-3 β -オールは還元されDMZymとなるが、P-450_{L14 α} 精製の副産物であるアミノオクチルセファロース非吸着画分にはこの反応を触媒するNADPH依存性の還元酵素が存在することが代謝産物の分析より判った。

論文の審査結果の要旨

ラノステロールの14 α 位のメチル基の酸化的脱離はコレステロール生合成の重要な1段階であり、肝ミクロソームによって触媒される。一酸化炭素阻害実験などに基いてこの反応にチトクロムP-450が関与していることが推定されていたが、このような活性を持つチトクロムP-450は酵母ミクロソームからは精製されているが、肝ミクロソームからはまだ得られていない。

岩崎君は薬物を投与していないラットの肝ミクロソームからラノステロール14 α 脱メチル化活性を指標として精製を行い、この活性を持つP-450の1種を均一標品として得ることに成功した。このP-450は分子量約55,000で、酸化型で低スピン型の吸収スペクトルを示し、還元型のCO差スペクトルは448 nmに極大を持つ。このP-450と精製したNADPH-チトクロムP-450還元酵素を含む再構成モノオキシゲナーゼ系はNADPHと分子状酸素の存在下でラノステロールから4,4-ジメチル-5 α -コレステール-8,14,24-トリエン-3 β -オールを生成することをGC-MS分析によって証明した。また抗真菌剤ブチオベートは50~100 nMの低濃度でこの反応を阻害し、これをこのP-450に添加するとII型の差スペクトルを与えることを見出した。一般に肝ミクロソームのチトクロムP-450は各種の薬物の酸化的代謝を触媒するが、本研究で精製されたP-450はアミノピリンを代謝する以外には他の代表的薬物には全く活性を示さず、基質特異性が著しく限定された特殊な分子種であると考えられる。

以上のように、岩崎君の業績は従来不明であった肝ミクロソームにおけるラノステロール14 α 脱メチル化を触媒するチトクロムP-450を精製し、その性質を解明したものであり、理学博士の学位に値するものと認められる。