



Title	グルタチオンS -トランスフェラーゼの研究
Author(s)	亀井, 加恵子
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/36874
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

氏名・(本籍)	かめ 亀	い 井	か 加	え 恵	こ 子
学位の種類	理	学	博	士	
学位記番号	第	8861	号		
学位授与の日付	平成元年	10月	5日		
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当				
学位論文題目	グルタチオンS-トランスフェラーゼの研究				
論文審査委員	(主査)				
	教授	松原	央		
	(副査)				
	教授	福井	俊郎	教授	崎山
				教授	原
					三郎

論文内容の要旨

グルタチオンS-トランスフェラーゼは多機能を有する解毒酵素として知られており、生体内の異物とグルタチオンの抱合反応を触媒する抱合活性の他に、有機過酸化物のグルタチオンによる還元反応を触媒するグルタチオンペルオキシダーゼ活性などを有している。有機過酸化物を還元する酵素としてはもともとSe依存性グルタチオンペルオキシダーゼが知られており、肝臓内ではグルタチオンS-トランスフェラーゼとSe依存性グルタチオンペルオキシダーゼが競合して有機過酸化物の処理を行っていると考えられる。

本研究ではモルモット、ラット、ウサギおよびチキンの肝臓を用いて解毒関連酵素の検索を行なったところ、モルモット肝臓にはSe依存性グルタチオンペルオキシダーゼ活性が少なく、逆にグルタチオンS-トランスフェラーゼ活性とカタラーゼ活性が高いことが分かった。このことから、モルモットにおいては有機過酸化物の処理はグルタチオンS-トランスフェラーゼが主に行なっており、全グルタチオンペルオキシダーゼ活性の80%を占めていることが分かった。

モルモット肝臓よりグルタチオンS-トランスフェラーゼを精製したところ、4種のアイソザイムGST a, b, c, dを得ることが出来た。その際、グルタチオントヨパールアフィニティーカラムに対してGST aのみが吸着しなかった。Sephadex G-75によるゲルろ過による分子量測定では全て約50,000であり、SDS-ポリアクリルアミド電気泳動による測定ではGST aが23,500であり他は25,000であることから全てダイマーからなっていることが確認された。各アイソザイムの基質特異性を調べたところ、GST aは有機過酸化物に対する比活性が他のアイソザイムの約100倍も高くGST aがモルモット肝臓のSe非依存性グルタチオンペルオキシダーゼであることが分かった。また、クメンハイドロペ

ルオキシドに対するGST aの k_m 値は0.12mMであり、生体内のグルタチオン濃度でのSe依存性グルタチオンペルオキシダーゼのクメンヒドロペルオキシドに対する k_m 値とほぼ同程度であった。このことから、GST aは生体内においてSe非依存性グルタチオンペルオキシダーゼとして十分に有機過酸化物の処理を行なっているものと考えられる。

GST aと主アイソザイムGST bの一次構造をブロムシアン分解とトリプシンなどによる酵素消化を用いて決定したところ、両者の間に非常に相同性の高い領域と相同性の全く無い領域が存在していることが分かった。GST aのフェニルグリオキサールを用いたアルギニン残基の修飾結果より、相同性の高い領域はグルタチオン結合領域であることが示唆された。

論文の審査結果の要旨

グルタチオンS-トランスフェラーゼは多機能を有する解毒酵素で生体内異物とGSHの抱合反応を触媒する他、有機過酸化物のGSHによる還元反応を触媒するグルタチオンペルオキシダーゼ活性などを有する。後者にはSe依存性グルタチオンペルオキシダーゼがあり、肝臓内ではグルタチオンS-トランスフェラーゼとSe-グルタチオンペルオキシダーゼが競合して有機過酸化物の処理を行っていると考えられる。

亀井さんはモルモット、ラット、ウサギ、チキンの肝臓を用い、解毒関連酵素の検索を行い、モルモットでは有機過酸化物の処理は主にグルタチオンS-トランスフェラーゼが関与していることを解明した。そこでこのモルモット、グルタチオンS-トランスフェラーゼを精製し、4種のアイソザイムGST a, b, c, dの存在を確認、それぞれ特有の分子量と会合様式をもつことを証明した。そして基質特異性の検討からGST aがモルモット肝のSe非依存性グルタチオンペルオキシダーゼであることを明らかにした。またクメンヒドロペルオキシドへの k_m がSe依存性酵素と同程度であったことからGST aが生体内でSe非依存性酵素として十分に過酸化物処理に役立っていると考察した。

そこで分子の構造と機能の関係を調べるため亀井さんはGST aとbの一次構造を解明し、Se依存性酵素と比較したところ両者(a, b)の間には非常に相同性の高い領域と相同性の全く認められない領域とが存在することをつきとめた。さらにGSTのアルギニン残基の修飾結果をふまえ、相同性の高い領域がGSHの結合域であろうと示唆することに成功した。

GST aおよびbはペルオキシダーゼ活性に顕著な差を示すが、有機過酸化物に対する結合力の差とともにGSHのチオレートアニオンが基質の反応を受ける部位に近づきうるかどうかの差によるものと考察した。フェニルグリオキサールに対する反応性の相異からGST bのGSH結合域はGST aのそれに比べて内部に埋もれているのではないかという示唆を与え、グルタチオンペルオキシダーゼ活性の差異はGST aとbの構造の差異を反映しているものと結論した。

以上の成果は理学博士の学位論文として十分に価値のあるものと認める。