



|              |  |
|--------------|--|
| Title        | Structure and Function Relationship of Rabbit Liver Microsomal P450 2C2  |
| Author(s)    | 宇野, 知秀   |
| Citation     | 大阪大学, 1992, 博士論文   |
| Version Type |  |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/38359">https://hdl.handle.net/11094/38359</a>  |
| 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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

|               |   |
|---------------|---|
| 氏 名           | 宇 野 知 秀   |
| 博士の専攻分野の名称    | 博 士 (理 学)   |
| 学 位 記 番 号     | 第 1 0 4 3 0 号   |
| 学 位 授 与 年 月 日 | 平 成 4 年 10 月 6 日  |
| 学 位 授 与 の 要 件 | 学位規則第4条第2項該当  |
| 学 位 論 文 名     | Structure and Function Relationship of Rabbit Liver<br>Microsomal P450 2C2<br>(ウサギ肝ミクロゾームの P450 2C2 の構造と機能の相関性について) |
| 論 文 審 査 委 員   | (主査) 教 授 浅野 朗<br>(副査) 教 授 二井 將光 教 授 崎山 文夫 大阪府立大学教授 今井 嘉郎  |

### 論 文 内 容 の 要 旨

チトクローム P450はステロイド、脂肪酸などの内在性物質、および、薬物などの外来性物質を代謝する一群のヘムチオレートタンパク質の総称である。肝臓のミクロゾームにはその内の多種類が存在しており、それぞれの分子種は広い基質特異性を示し、しかも同一の基質に重複して作用する。このため構造と機能の相関性について核心に迫る研究はこれまでに見られなかった。ここではウサギの肝臓より cDNA を得た P450 の内基質特異性の異なる 2 種の P450、ラウリン酸  $\omega$ -1 水酸化酵素である P450 2C2 とテストステロン 16  $\alpha$  水酸化酵素である P450 2C14 のキメラに対する cDNA を構築、酵母内で発現させ、その性質を調べることにより P450 2C2 の構造と機能の相関性について検討した。(1) 2C2 (アミノ酸総数 490 残基) の第 210-261 残基がラウリン酸の結合に必要であるが、その水酸化には更に N 末端に近い領域を必要とする。色々のキメラを作製して活性を調べた結果、第 90-125 残基が 2C2 の配列であっても第 210-261 残基が 2C14 の配列をもつキメラはほとんど活性を示さなかった。また一方の領域のみが 2C2 の配列をもつキメラは両領域とも 2C2 の配列をもつキメラの比べて基質の親和力は低かった。即ち、基質の結合に対して、両領域が相加的に働くことが分かった。(2) 2C2 のカルボキシ末端 28 残基を 2C14 の配列に置換したキメラ (P450 (2Hc3)) を作製して、その活性を調べたところ、元の P450 のどちらももたないテストステロン 16  $\beta$  水酸化活性を示した。更に、ラウリン酸に対する活性は 2C2 の約 3 倍に増加していた。C 末端 28 残基のみがテストステロンの結合に働いているとは考えられず、2C2 は元々、分子内部にテストステロンの 16  $\beta$  位をヘムに向けて結合出来る構造をもつが、テストステロンのその部分への進入を C 末端領域が妨げていることを示唆している。(3) P450 (2Hc3) の配列の内、2C2、2C14 のいずれかに由来する部分を 2E1、2B5 の配列で置換したときは 16  $\beta$  水酸化活性は消失した。このことより 16  $\beta$  水酸化活性の出現には 2C2 と 2C14 の特定の配列を組み合わせることが必要であることがわかった。また、色々のキメラを作製して活性を調べた結果、2C2-125 残基部分が 16  $\beta$  水酸化活性とラウリン酸水酸化活性に共通に関わっていることが分かった。(4) 2C2 のカルボキシ末端領域の 2C14 と置換することによりラウリン酸水酸化活性増大の理由を知るために還元速度と反応産物生成量と NADPH 酸化量の共益率を調べた結果、還元速度は増加しなかったが、共益率は増加した。このことより酸素化型複合体と電子共供与体との相互作用に変化が生じた可能性が示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

宇野君の論文は、構造は類似するがその基質特異性が異なるP450のキメラと、点変異を用いて、基質結合と酵素活性に必要な部位の決定、カルボキシ末端の二十数残基のみを入れ換えたキメラで、親分子のいずれにもない新しい活性の発現の発見、この部位が、基質の活性部位への導入および酵素活性に非常に重要である事の発見、などの結果を得たもので、博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。