



|              |  |
|--------------|--|
| Title        | Studies on Acetanilide-hydrolyzing Esterase of Rat Liver Microsomes. I. Solubilization, Purification, and Intramicrosomal Localization |
| Author(s)    | Akao, Teruaki  |
| Citation     | 大阪大学, 1972, 博士論文   |
| Version Type | VoR  |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/552">https://hdl.handle.net/11094/552</a>  |
| rights       |  |
| Note         |  |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

|         |  |
|---------|--|
| 氏名・(本籍) | 赤 尾 光 昭                                |
| 学位の種類   | 理 学 博 士                                |
| 学位記番号   | 第 2457 号                               |
| 学位授与の日付 | 昭和47年3月25日                             |
| 学位授与の要件 | 理学研究科生物化学専攻<br>学位規則第5条第1項該当            |
| 学位論文題目  | ラット肝ミクロゾームのアセトアニリド水解活性をもつ<br>エステラーゼの研究 |
| 論文審査委員  | (主査) 教授 佐藤 了<br>(副査) 教授 須田 正己 教授 堀尾 武一 |

### 論文内容の要旨

大村らは、ラット肝ミクロゾームに局在する電子伝達系成分cytochrome  $b_5$ とNADPH-cytochrome  $c$  reductaseの代謝回転速度を測定し、両者の値が異なることを示した。膜の主要な成分であるたんぱく質がランダムに合成分解されることをいうためには、さらに電子伝達系成分以外の膜たんぱく質を調べる必要がある。そのためミクロゾームに局在するアセトアニリド水解活性をもつエステラーゼについて研究した。

まず、このエステラーゼの可溶化を行なった。この酵素は cytochrome  $b_5$  やNADPH-cytochrome  $c$  reductase と異なり、低濃度の界面活性剤、アルカリ、音波、90%アセトン、ホスフォリパーゼ A (pH 6.8) 处理でミクロゾーム膜から遊離するが、トリプシンでは遊離しなかった。この結果からエステラーゼのミクロゾーム膜への結合様式がcytochrome  $b_5$  やNADPH-cytochrome  $c$  reductase と異なることが推察された。さらにこのエステラーゼの抗体はこの酵素を沈降させるが、ミクロゾーム膜には吸着せず、この酵素がミクロゾーム膜の内側に局在している可能性が強いことを示した。

次に、このように前に代謝回転速度が測定されたcytochrome  $b_5$  やNADPH-cytochrome  $c$  reductase (半減期；5日と2.5～3日)と膜への結合性や膜内局在が異なるこのエステラーゼについて代謝回転速度を測定した。このエステラーゼは合成後約80%が2時間以内に急速に消失し (半減期；約30分)、その後はゆっくりと分解される (半減期；約4日) ことがわかった。この結果は、ミクロゾーム膜たんぱく質がそれぞれランダムに代謝回転していることを示すものである。

## 論文の審査結果の要旨

肝ミクロゾーム膜の形成と分解の機作の研究において、膜を構成する個々の酵素の合成分解の挙動を知ることが重要である。赤尾君はこの見地から、ラット肝ミクロゾームに局在するアセトアニリド水解活性をもつエステラーゼ（以下単にエステラーゼと呼ぶ）に着目し、まずその可溶化精製の研究を行なった。

その結果、このエステラーゼはプロテアーゼ消化では可溶化されないが、音波処理、アルカリ処理、含水アセトン処理、ホスフォリパーゼA処理（pH 6.8）、低濃度の界面活性剤処理などによってエステラーゼをほぼ均一状態にまで精製する方法を開発し、得られた精製エステラーゼをウサギに注射することによって、これに対する沈降抗体を得た。この抗体は可溶化されたエステラーゼを沈降させ得るが、ミクロゾーム小胞に結合したエステラーゼとは反応し得ないことを明らかにした。この事実および上記の可溶化挙動にもとづいて、この酵素はミクロゾーム小胞膜の内面に比較的ゆるやかに結合しているものと推定された。

次に<sup>14</sup>C-ロイシンをラットに注射後経時的に肝ミクロゾームからエステラーゼを精製し、この酵素のターンオーバーを測定した。その結果、大部分のエステラーゼは半減期約4日のかなり遅い速度で分解していることがわかったが、新しく合成されたミクロゾームに組みこまれたエステラーゼのかなりの部分（ただしミクロゾームの全エステラーゼ含量に比べれば僅少部分）は1-2時間以内に急速に消失するという特異な現象が起ることが見出された。

以上の結果は従来半減期が測定されているミクロゾーム膜の成分（チトクロムb<sub>5</sub>、約5日；NADPH-チトクロムc還元酵素、約3日）についての知見と併せ考えられると、膜の蛋白成分はそれぞれ他と無関係に代謝回転をしていることを示すものとして重要である。また、新しく合成されたエステラーゼのかなりの部分が急速に消失する現象は膜構成蛋白質の複雑な動態を示すものとして示唆的である。よって赤尾君の論文は理学博士の学位に十分価するものと認められる。