

氏 名	保 坂 公 平
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	医 博 第 488 号
学 位 授 与 の 日 付	昭 和 52 年 11 月 24 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	医 学 研 究 科 生 理 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Diacylglycerol Acyltransferase from Rat Liver Microsomes. Separation and Acyl-Donor Specificity (ラット肝ミクロゾームからのジアシルグリセロールアシルトランス フェラーゼ, 分離とアシル供与体特異性)
論文調査委員	(主査) 教 授 佐 野 晴 洋 教 授 早 石 修 教 授 沼 正 作

論 文 内 容 の 要 旨

トリアシルグリセロールは動物の主要なエネルギー貯蔵物質であり、肝臓等の種々の臓器で生合成される。ラット肝トリアシルグリセロール分子内での脂肪酸分布はグリセロ磷脂質におけると同様に規則性を有する。即ちグリセロール骨格の1位には主として飽和脂肪酸が、2位には主として不飽和脂肪酸が結合している。また3位にも不飽和脂肪酸が多く結合している。このような規則性の基盤となる酵素的な機構は最近まで不明であった。その理由はグリセロール骨格への脂肪酸の導入を行う種々の酵素がミクロゾームに結合していて、それぞれの分離に成功していなかったもので、酵素自身の性質が不明確であったためである。最近山下等はラット肝ミクロゾームから glycerolphosphate (GP) acyltransferase, 1-acylglycerolphosphate (1-AGP) acyltransferase および 1-acylglycerolphosphorylcholine (1-AGPC) acyltransferase を可溶化し、互いに分離することに成功し、それ等の性質を検討した結果、グリセロリピド分子内の1位と2位の規則的な脂肪酸分布は酵素のアシル-CoA に対する基質特異性により説明できることを示した。diacylglycerol (DG) acyltransferase はトリアシルグリセロール生合成の最終段階に関与し、グリセロリピドの3位へ脂肪酸を導入する酵素であるが、その可溶化ならびに分離は未だ全く行われていなかった。著者は本酵素の性状、特にアシル-CoA に対する基質特異性を検索するためにラット肝ミクロゾームの本酵素を他の acyltransferase から分離することを試み、次の様な結果を得た。

① 従来知られている本酵素の活性測定法はいずれも操作が煩雑であり、測定に比較的長時間を要する。そこでこれ等の難点を取り除き、簡単でかつ多数の試料を短時間のうちに測定できる方法を開発した。

② ラット肝ミクロゾームを TritonX-100 で可溶化し、Sephrose 2B を用いたカラムクロマトグラフィーの後、蔗糖密度勾配遠心を行うことにより、本酵素を GP acyltransferase および 1-AGP acyltransferase から分離した。③ 本酵素を 1-AGPC acyltransferase から分離することはできなかった。

たが、熱安定性と SH 結合試薬に対する感受性の差から両酵素は互いに異なる酵素であることが示された。④ 本酵素はアシル-CoA に対し幅広い基質特異性を示した。即ち 飽和脂肪酸-CoA および 不飽和脂肪酸-CoA (モノエン, ジエン, テトラエン型) はいずれも基質としてほぼ同程度に有効であった。また至適活性を得るのに必要なアシル-CoA の濃度は約 $200\mu M$ であった。

今回著者は初めて DG acyltransferase を GP acyltransferase および 1-AGP acyltransferase から分離することに成功した。さらに本酵素はアシル-CoA に対し幅広い基質特異性を示し、また至適活性を得るのに比較的高濃度のアシル-CoA が必要であることが明らかとなった。このことは GP acyltransferase, 1-AGP acyltransferase および 1-AGPC acyltransferase が程度の差はあれ、アシル-CoA に対し高い基質特異性を示し、低濃度のアシル-CoA ($10-30\mu M$) で至適活性を与えるのと対照的である。トリアシルグリセロールがエネルギー貯蔵物質であるという点からみると DG acyltransferase がこのような性質を示すことは合目的性を有する。またトリアシルグリセロールの 3 位の脂肪酸組成は本酵素の性質から考えて細胞内のアシル-CoA の組成によって影響を受けることが推察される。

論文審査の結果の要旨

Diacylglycerol acyltransferase はトリアシルグリセロール生合成の最終段階に関与する酵素であり、ミクロゾーム膜に結合しているため、その可溶化、分離は非常に困難とされていた。著者はまず本酵素活性測定のため簡単でかつ多数の試料の測定が可能な方法を開発した。次にラット肝ミクロゾーム膜を Triton X-100 で可溶化し、Sephadex 2B によるゲルろ過の後、蔗糖密度勾配遠心により、本酵素を Glycerolphosphate acyltransferase と 1-Acylglycerolphosphate acyltransferase から分離した。本酵素と 1-Acylglycerolphosphorylcholine acyltransferase とは互いに分離できなかったが、熱安定性 SH 結合試薬に対する感受性の差から両者は互いに異なる酵素であることを結論した。分離された本酵素はアシル-CoA に対し広い基質特異性を示し、飽和脂肪酸 CoA および不飽和脂肪酸 CoA はいずれも良い基質となることから、ラット肝トリアシルグリセロール分子内の 3 位の脂肪酸組成は細胞内のアシル-CoA のプールに依存することを推論した。以上の結果はグリセロリピド分子内における規則的な脂肪酸分布の成立機構の解明に寄与するところが大である。

よって、本論文は医学博士の学位論文として価値あるものと認める。