

理学博士佐藤了君の「ミクロソームの複合酸素添加酵素系

に関する研究」に対する授賞審査要旨

ミクロソームとは広く動植物細胞に見られる細胞内小器官である。肝細胞などのミクロソームに特殊な酸化還元酵素系（今日の複合酸素添加酵素系）が存在することは一九四〇年代から知られており、一九五二年にはその成分としてチトクロム b_5 が発見されたが、その後この酵素系はほとんど注目されず、その実体は長く不明のまま残されていた。

一九五九年、佐藤了君はこの酵素系の重要性を予想し、その研究に着手し、それ以来あいついで新知見を発表し、この系の全容の解明に中心的役割を果たしてきた。殊に一九六二年、同君は肝ミクロソームの一酸化炭素結合成分が、異常な分光学的性質をもつにもかかわらず、実はプロトヘムを含む蛋白質であることを発見し、これを「P-450」と名づけ、それがミクロソーム複合酸素添加酵素系の重要成分であることを示したが、この研究はこの酵素系に対する世界の研究者の強い関心と呼び、この分野の急速な発展を促す原動力となった。このような発展の結果、P-450 類似のヘム蛋白質は動物から細菌に至るまで生物界に広く分布することがわかり、きわめて重要なヘム蛋白質群を形成していることが明らかとなった。これらの P-450 はいずれも一原子酸素添加酵素（モノオキシゲナーゼ）として各種の重要な代謝に参画している。特に動物ではステロール、ステロイドホルモン、プロスタグランジ

ンやその前駆体である長鎖不飽和脂肪酸などの生理的に重要な脂質の代謝に関与しているほか、広義の薬物（医薬、農薬、食品添加物、環境汚染物質など）の酸化的解毒を行うという重要な役割を担っている。しかし、環境汚染物質 PCB のように、薬物によっては P-450 の作用によってかえって毒性が増加するものもある。また多くの発癌剤は P-450 によって酸化されることによってはじめて真の発癌活性を獲得する。このように P-450 の研究は薬物の薬理作用、薬害、発癌機構の解明にとっても必須なものとなったため、この分野の研究には生化学者のほか多くの薬理学者や癌学者が参加している。

佐藤君はこのような重要な研究分野を開拓したばかりでなく、P-450 の性質、反応機構、生理機能の解明にも多くの貢献を行い、この分野の発展に指導的役割を果たしてきた。ミクロソームの P-450 は可溶化すると不安定となるため、その精製は不可能視されていたが、佐藤君が多くの困難を克服して P-450 の精製法を世界にさががけて開発した功績は特に大きい。この方法によって種々の材料から P-450 を精製することが可能となり、P-450 の性質や反応機構の解明の急速な進展を促した。さらに重要な点は、精製法の確立の結果、動物の肝や肺のミクロソームには性質を異にする多種類の P-450 が存在すること、動物に薬物を投与すると、投与薬物の種類に応じて特定種類の P-450 が誘導的に増量することが確認されたことである。佐藤君は薬物投与および未投与のウサギの肝ミクロソームから合計一五種の P-450 を精製したが、これは同一材料から得られた P-450 としては最も多種類である。同君はこれらの P-450 の性質の詳細な比較検討を通して P-450 の分子多様性の生物学的意義の探究を行っている。

ミクロソーム複合酵素添加酵素系についての佐藤君の業績はP 450の研究にとどまらず多岐にわたるが、なかでもチトクロム_bの生理機能の発見は特筆に値する。チトクロム_bはこの酵素系の成分として古くから知られていたが、長年にわたって機能が不明であったので謎のチトクロムといわれていた。一九七一年、佐藤君はこのチトクロムが不飽和脂肪酸の生合成に関与していることを発見したが、これは長年の謎を解いたものとして高い評価を受けた。これに関連して、同君はこの酵素系の成分として青酸感受性の新酵素を発見し、これが脂肪酸の不飽和化に直接関与している一原子酵素添加酵素であることを証明した。

以上に略述したように、佐藤君はミクロソーム複合酵素添加酵素系そのものについて重要な業績を挙げたが、さらにこれに関連してなされた生体膜蛋白質の分子特性の研究もきわめて重要なものである。すなわち、同君はミクロソーム膜の内在性蛋白質であるチトクロム_bを界面活性剤を用いる方法によってはじめて完全な形で精製することに成功し、これがヘムを含む親水性領域と膜との結合に関与する疎水性領域とから成る両親媒性の蛋白質であることを証明した。この研究は生体膜の内在性蛋白質が両親媒性であることを初めて明確に示したものととして大きな関心を呼び、その後の生体膜の構造の研究、特にシンガーとニコルソンによる生体膜の流動モザイク膜型の提唱に大きな影響を与えたものである。

このように、佐藤君はミクロソーム複合酵素添加酵素系がまだほとんど注目されていなかった一九五九年に、その重要性を予見して研究に着手し、物理化学的手法を含む各種の技術を駆使することによって実験上の困難を克服し、上述のような多くの重要な成果を挙げただけでなく、この新しい酵素系の研究を今日のような活発な分野に育成する

上で指導的役割を果たしてきた。佐藤君は一九八〇年に米国生化学会の名誉会員に選ばれたが、このことが示しているように、同君の業績は国際的にきわめて高い評価を受けている。また国内ではこれらの業績によって松永賞、東レ科学技術賞および高松宮妃癌研究基金学術賞を受けている。

要約すれば、佐藤君は P-450 と呼ばれる新しいハム酵素の一群を発見し、その基本的性質を明らかにしたのをはじめとして、独創的な化学的方法を駆使してミトコンドーム複合酵素添加酵素系について数多くの重要な成果を挙げたものである。

* P-450 とは四五〇nm の吸収帯を示す色素 (ピグメント) という意味で与えられた仮の名であつたが、正式な命名をまたず、国際的に定着してしまつたものである。現在では「サイトクロム P-450」と呼ばれることが多し。

1' 主要な論文目録

1. A new cytochrome in liver microsomes. *J. Biol. Chem.*, **237**, PC1375 (1962) [T. Omura]
2. The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. I. Evidence for its hemoprotein nature. *J. Biol. Chem.*, **239**, 2370 (1964) [T. Omura]
3. The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. II. Solubilization, purification, and properties. *J. Biol. Chem.*, **239**, 2379 (1964) [T. Omura]
4. Function of cytochrome P-450 of liver microsomes. *Fed. Proc.*, **24**, 1181 (1965) [T. Omura, D. Y. Cooper, O. Posenhal & R. W. Estabrook]
5. An affinity column method for partial purification of cytochrome P-450 from phenobarbital-in-

- duced rabbit liver microsomes. J. Biochem., 75, 689 (1974) [Y. Imai]
6. A gel-electrophoretically homogeneous preparation of cytochrome P-450 from liver microsomes of phenobarbital-pretreated rabbits. Biochem. Biophys. Res. Commun., 60, 8 (1974) [Y. Imai]
 7. Multiple forms of cytochrome P-450 purified from liver microsomes of phenobarbital- and 3-methyl-cholanthrene-pretreated rabbits. I. Resolution, purification, and molecular properties. J. Biochem., 88, 489 (1980) [Y. Imai, C. Hashimoto-Yutsudo, H. Satake & A. Girardin]
 8. Multiple forms of cytochrome P-450 purified from liver microsomes of phenobarbital- and 3-methyl-cholanthrene-pretreated rabbits. II. Spectral properties. J. Biochem., 88, 505 (1980) [C. Hashimoto-Yutsudo & Y. Imai]
 9. Multiple forms of cytochrome P-450 from liver microsomes of drug-untreated rabbits: Purification and characterization. in "Oxygenases and Oxygen Metabolism" (Eds. M. Nozaki *et al.*), Academic Press, New York & London, p. 321 (1982) [T. Aoyama & Y. Imai]
 10. 5 manuscripts in preparation [T. Aoyama & Y. Imai]
 11. Substrate interaction with hydroxylase system in liver microsomes. Biochem. Biophys. Res. Commun., 22, 620 (1966) [Y. Imai]
 12. Studies on the substrate interaction with P-450 in drug hydroxylation by liver microsomes. J. Biochem., 62, 239 (1967) [Y. Imai]
 13. Rate-limiting step in the reconstituted microsomal drug hydroxylase system! J. Biochem., 82, 1237 (1977) [Y. Imai & Y. Iyanagi]
 14. Preparation of hepatic microsomal particles containing P-450 as sole heme constituent and ab-

- solute absorption spectra of P-450. *J. Biochem.*, **63**, 766 (1968) [H. Nishibayashi]
15. Evidence for two forms of P-450 hemoprotein in microsomal membranes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **23**, 5 (1966) [Y. Imai]
 16. Anomalous spectral interactions of reduced P-450 with ethyl isocyanide and some other lipophilic ligands. *J. Biochem.*, **62**, 464 (1967) [Y. Imai]
 17. Effects of ionic strength on the ethyl isocyanide difference spectrum of reduced P-450 in liver microsomes. *J. Biochem.*, **63**, 270 (1968) [Y. Imai]
 18. Signal recognition particle is required for co-translational insertion of cytochrome P-450 into microsomal membranes. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **81**, 3361 (1984) [M. Sakaguchi & K. Mihara]
 19. Hepatic mitochondrial cytochrome P-450: Isolation and functional characterization. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **74**, 5477 (1977) [Y. Atsuta, Y. Imai, S. Taniguchi & K. Okuda]
 20. Involvement of cytochrome P-450 and a cyanide-sensitive enzyme in different steps of lanosterol demethylation by yeast microsomes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **85**, 21-27 (1978) [M. Ohba, Y. Yoshida, T. Nishino & H. Katsuki]
 21. Yeast cytochrome P-450 catalyzing lanosterol 14 α -demethylation. II. Lanosterol metabolism by purified P-450_{14 α W} and by intact microsomes. *J. Biol. Chem.*, **259**, 1661 (1984) [Y. Aoyama & Y. Yoshida]
 22. Electron-transfer mechanism associated with fatty acid desaturation catalyzed by liver microsomes. *Biochim. Biophys. Acta*, **128**, 13 (1966) [N. Oshino & Y. Imai]
 23. A function of cytochrome *b₅* in fatty acid desaturation by rat liver microsomes. *J. Biochem.*, **69**,

- 155 (1971) [N. Oshino & Y. Imai]
24. Reconstitution of hepatic microsomal stearyl-CoA desaturase system from solubilized components. *J. Biochem.*, **72**, 1163 (1972) [T. Shimakata & K. Mihara]
 25. Fatty acid desaturase system of yeast microsomes. Involvement of cytochrome b_5 -containing electron transport chain. *Arch. Biochem. Biophys.*, **175**, 284 (1976) [Y. Tamura, Y. Yoshida & H. Kumaoka]
 26. Mutant and immunochemical studies on the involvement of cytochrome b_5 in fatty acid desaturation by yeast microsomes. *Biochim. Biophys. Acta*, **572**, 352 (1979) [M. Ohba, Y. Yoshida, C. Bielmayer & H. Ruis]
 27. Involvement of cytochrome b_5 and a cyanide-sensitive monooxygenase in the 4-demethylation of 4,4-dimethylzymosterol by yeast microsomes. *Biochim. Biophys. Acta*, **663**, 194 (1981) [Y. Aoyama, Y. Yoshida & H. Ruis]
 28. The dietary control of the microsomal stearyl CoA desaturation enzyme system in rat liver. *Arch. Biochem. Biophys.*, **149**, 369 (1972) [N. Oshino]
 29. Stimulation by phenols of the reoxidation of microsomal bound cytochrome b_5 and its implications to fatty acid desaturation. *J. Biochem.*, **69**, 169 (1971) [N. Oshino]
 30. Purification by means of detergents and properties of cytochrome b_5 . *J. Biol. Chem.*, **243**, 4922 (1968) [A. Ito]
 31. Characterization of two hemoproteins of liver microsomes. in "Microsomes and Drug Oxidations" (Eds. J.R. Gillette *et al.*), Academic Press, New York, p. 111 (1969) [H. Nishibayashi & A.

Ito]

32. Incorporation *in vitro* of cytochrome b_5 into liver microsomal membranes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **51**, 1 (1973) [K. Enomoto]
33. Purification and properties of the intact form of NADH-cytochrome b_5 reductase from rabbit liver microsomes. *J. Biochem.*, **78**, 1057 (1975) [K. Mihara]
34. Asymmetric binding of cytochrome b_5 to the membrane of human erythrocyte ghosts. *Biochim. Biophys. Acta*, **466**, 136 (1977) [K. Enomoto]
35. Inhibition of the binding of cytochrome b_5 to phosphatidylcholine vesicles by cholesterol. *Biochim. Biophys. Acta*, **550**, 357 (1979) [S. Tajima]
36. Denaturation of cytochrome b_5 by guanidine hydrochloride: Evidence for independent folding of the hydrophilic and hydrophobic moieties of the cytochrome molecule. *Arch. Biochem. Biophys.*, **171**, 90 (1976) [S. Tajima]
37. Nature of tryptic attack on cytochrome b_5 and further evidence for the two-domain structure of the cytochrome molecule. *J. Biochem.*, **84**, 1573 (1978) [S. Tajima & K. Enomoto]
38. Two-domain structure of microsomal reduced nicotinamide adenine dinucleotide-cytochrome b_5 reductase. *Arch. Biochem. Biophys.*, **198**, 137 (1979) [S. Tajima & K. Mihara]
39. Reduced nicotinamide adenine dinucleotide-cytochrome b_5 reductase: Location of the hydrophobic, membrane-binding region at the carboxyl-terminal end and the masked amino terminus. *Biochemistry*, **17**, 2829 (1979) [K. Mihara, R. Sakakibara & H. Wada]

ほか一三八編

「」内は共著者。