

察されていないことから、本酵素の教科書などにおける記載が変わるかも知れない。

(京大農 食品工学 山本 憲二)

文 献

- 1) Ginsburg, V.: *Methods in Enzymol.*, **8**, 293-295 (1966)
- 2) Gilbert, J. M., Matsushashi, M., Strominger, J. L.: *J. Biol. Chem.*, **240**, 1305-1308 (1965)
- 3) Ginsburg, V.: *J. Biol. Chem.*, **235**, 2196-2201 (1960)
- 4) Ginsburg, V.: *J. Biol. Chem.*, **236**, 2389-2393 (1961)
- 5) Seno, T., Okubo, Y., Tanaka, M., Yamaguchi, H., Ogawa, Y.: *Jpn. J. Human. Genet.*, **25**, 160-161 (1980)
- 6) Phillips, M. L., Nudelman, E., Gaeta, F. C. A., Perez, M., Singhal, A. K., Hakomori, S., Paulson, J. C.: *Science*, **250**, 1130-1132 (1990)
- 7) Yamamoto, K., Katayama, I., Onoda, Y., Inami, M., Kumagai, H., Tochikura, T.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **300**, 694-698 (1993)
- 8) Oths, P. J., Mayer, R. M., Floss, H. G.: *Carbohydr. Res.*, **198**, 91-100 (1990)
- 9) Broschat, K. O., Chang, S., Serif, G.: *Eur. J. Biochem.*, **153**, 397-401 (1988)
- 10) Liao, T. H., Barber, G. A.: *Biochim. Biophys. Acta*, **276**, 85-93 (1972)

ミトコンドリア型アスパラギン酸 トランスアミナーゼは長鎖脂肪酸 輸送体と同一か

最近、酵素が本来の触媒活性に加えて、触媒活性とは全く関係しない、別種の生理機能を果たすことを示す結果が報告されつつある。昨年、それら酵素を多面的機能酵素と仮称し、本トピックスで紹介した¹⁾。ここでは、代表的ビタミン B₆ 酵素であるアスパラギン酸トランスアミナーゼのミトコンドリア型アイソザイム (mAspAT) が長鎖脂肪酸の輸送体と同一であることを示唆する結果を紹介する。

細胞の長鎖脂肪酸の取り込みは長い間、単純拡散によると考えられてきた。しかしながら、最近の研究により、繊維芽細胞を除く肝細胞、脂肪細胞、心筋細胞、空腸細胞では長鎖脂肪酸を促進拡散により取り込んでいることが明らかとなった。現在まで、長鎖脂肪酸の輸送体として、22 KDa から 80 KDa の分子質量を持つ 5 種類のタンパク質が形質膜に見いだされている。これらのうち、40~43 KDa の輸送タンパク質 (FABPpm) はラットの肝細胞から単離され、その後、繊維芽細胞を除く、肝細胞以外の各種細胞にも存在する

ことが示された。

この FABPpm が mAspAT と同一であるというのである。1990年 Berk ら²⁾は、阪大の和田、堀尾両先生との共同研究で、FABPpm と mAspAT が、分子量、吸収スペクトル、アミノ酸組成と部分 (3~24番目) アミノ酸配列、オレイン酸に対する親和性、ポリおよびモノクローナル抗体との反応性において、ほとんど全く同じ性質を有していることを示し、これらタンパク質が類縁もしくは同一であることを明らかにした。しかしながら、本来ミトコンドリアに局在しているべきアイソザイムが形質膜に存在していることはなかなか説明が困難であり、さらなる証明が求められた。

マウス 3T3-L1 繊維芽細胞は興味深い性質を有する。すなわち、本細胞は指数増殖期には繊維芽細胞としての形態と代謝的特徴を示すが、密集成長の間に脂肪細胞へと分化し、それに伴ない細胞質中に油滴が蓄積し、脂肪代謝に関与する酵素類が生合成される。最近、Berk ら³⁾は、この 3T3-L1 繊維芽細胞の脂肪細胞への分化に伴う mAspAT の形質膜における発現を免疫学的手法により追跡し、mAspAT が長鎖脂肪酸の取り込みに関与していることを示した。その結果を以下に述べる。

盛んに増殖中で、紡錘形の繊維芽細胞の形態をしている 3T3-L1 細胞では、形質膜と細胞内部共に免疫組織化学的に mAspAT 抗原は認められなかった。本細胞はミトコンドリアを有しているものの細胞膜の透過性が正常に保たれている状態ではミトコンドリアマトリックスに存在する mAspAT は検出されない。一方、あらかじめこの細胞の膜透過性を変化させ、抗体タンパク質が透過できるように処理した同細胞の内部ではミトコンドリアに mAspAT 抗原が認められた。すなわち、今回の免疫組織化学的手法では生体膜表面の mAspAT 抗原のみを検出できることになる。

この細胞が、培養開始後 1~2 日で密集成長の状態になると、一部の細胞の形質膜に mAspAT 抗原が認められるようになった。この時の細胞は紡錘形をしており、細胞内に油滴は認められない。さらに培養日数が 8 日間程度になり、細胞が脂肪細胞の形態を示すようになると形態膜上に mAspAT 抗原が強く発現された。

この細胞分化に伴う形質膜上の mAspAT 抗原の発現の様式は、同細胞における FABPpm 抗原の発現⁴⁾と全く同一の結果であった。さらに抗 mAspAT

抗体を、精製した FABPpm とあらかじめ混合しておくと、脂肪細胞形態となった細胞でも、その形質膜上の mAspAT 抗原は全く検出されなかった。繊維芽細胞状態と脂肪細胞状態の細胞から形質膜を調製し、SDS-PAGE にかけるウエスタンブロットした結果、脂肪細胞形態の形質膜中にだけ 43 KDa のタンパク質 (mAspAT/FABPpm) が多量存在していることが確認された。

さらに脂肪細胞状態になった 3T3-L1 細胞によるオレイン酸の取り込み活性は抗 mAspAT 抗体により、31~55%阻害された。この阻害の程度は同細胞を抗 FABPpm 抗体で処理したときとほぼ同じであった。なお、これらの抗体で100%まで阻害されないのは受動機構による取り込みと、FABPpm 以外の輸送体が存在するためと思われた。抗 mAspAT 抗体による阻害は長鎖脂肪酸に特異的であり、オクタン酸やデオキシングルコース等の取り込みは阻害しなかった。

mAspAT の RNA プローブを用いる RNase プロテクション法によって、脂肪細胞形態となった細胞中に mAspAT の mRNA が合成されていることが示された。

これらの結果から、mAspAT が長鎖脂肪酸の輸送体としても機能している可能性が非常に高くなった。今後、形質膜に mAspAT が局在化する機構が明らかにできればはっきりとした結論が得られると思われる。

われわれは、稲のミトコンドリアとパーオキシソームの膜に AspAT が強く結合していることを明らかにしている⁵⁾。AspAT アイソザイムが生体膜に局在化する機構が植物にも存在するのであろうか。

(高知大農 生物資源科学 八木 年晴)

文 献

- 1) 八木年晴: ビタミン, 68, 128-130 (1994)
- 2) Berk, P. D., Wada, H., Horio, Y., Potter, B. J., Sorrentino, D., Zhou, S.-L., Isola, L. M., Stump, D., Kiang, C.-L., Thung, S.: Proc. Natl. Acad. Sci., 87, 3484 (1990)
- 3) Zhou, S.-L., Stump, D., Kiang, C.-L., Isola, L. M., Berk, P. D.: Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 208, 263 (1995)
- 4) Zhou, S.-L., Stump, D., Sorrentino, D., Potter, B. J., Berk, P. D.: J. Biol. Chem., 267, 14456 (1992)
- 5) Yagi, T., Masaki, K., Yamamoto, S.: Biosci. Biotech. Biochem., 57, 2081 (1993)