

氏名	泉 邦彦 いずみ くに ひこ
学位の種類	理学博士
学位記番号	論理博第94号
学位授与の日付	昭和40年3月23日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	<b>Biochemical Study on Distribution and Metabolism of Amino Sugars</b> (アミノ糖の分布と代謝に関する生化学的研究)
論文調査委員	(主査) 教授 田中正三 教授 波多野博行 教授 杉野幸夫

### 論文内容の要旨

グルコサミン・ガラクトサミンなどのアミノ糖は、甲かく類や昆虫のからのキチン、軟骨・けんのコンドロイチン硫酸などタン白質と共に動物の保護組織をつくっている多糖類の構成成分として以前からその存在が知られていたが、近年に至ってヘパリン・血液型決定物質・生殖せん刺激ホルモンなどの細胞外に分泌され、特殊の生物活性を示す物質にもアミノ糖を含む糖タン白やムコポリペプチドがあることがわかり、生物界におけるアミノ糖含有物質の重要性が注目されるようになった。しかし、この種の含水炭素については未だ解明されていない問題が多く残されており、化学的、生化学的研究の進展が要望されてきている。

著者の学位申請論文は、高等動物の血清や肝細胞に含まれているアミノ糖含有糖タン白や微生物の産生するムコポリペプチドなどについて詳細な研究を行ない、それらの含水炭素部分の化学組成やアミノ酸の結合様式の多様性を明らかにし、また、肝におけるグルコサミンの代謝に関係する酵素を詳しくしらべてアミノ糖の活性化経路について研究したものである。

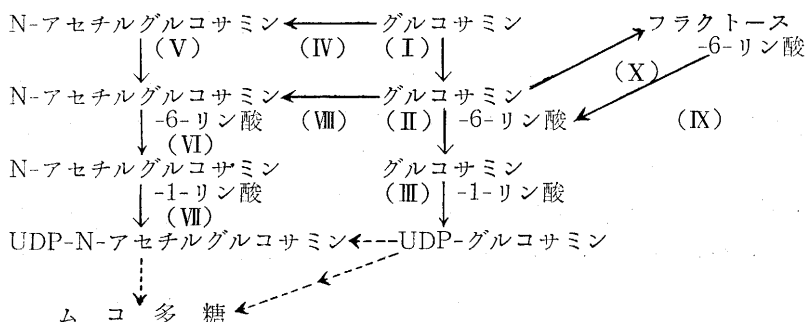
まず、血清の糖タン白の研究は、ヒトの血清から  $\alpha$ -Acid glycoprotein をとり、精製したのち *Streptomyces griseus* のプロテアーゼを作用させてタン白質の部分を分解させ、含水炭素部分を集めてカラムクロマトグラフィーで精製し、加水分解して化学組成をしらべ、これが中性糖・グルコサミン・シアル酸よりなる多糖にアスパラギン酸、スレオニンなどのアミノ酸が結合したものであることを定め、つぎに、この糖タン白に Sialidase, Pronase を順次作用させてシアル酸とタン白質とを除いてえた多糖について詳細な研究を行なって、これが分子量約2,800の糖-アミノ酸複合体であり、そのモル組成はヘキソース8・グルコサミン6・フコース1・アスパラギン酸1・スレオニン1・アンモニヤ2で、二つのアミノ酸はそれぞれ糖に直接結合していることを明らかにした。

つぎに、肝の糖タン白の研究では、牛肝を三塩化酢酸溶液とホモゲナイズして他のタン白質と共に糖タン白を沈殿させてグリコゲンと別ち、脂質を溶媒抽出で除いたのち、トリプシン・Pronaseなどのタン白

分解酵素処理，蛇毒による核酸の分解除去，エタノール沈澱などの処理を行ない4種の糖一ペプチド複合体をえた。これらの複合体はそれぞれの構成糖の含量は異なるが，いずれもアミノ糖・ヘキソース・メチルペントース・シアル酸よりなる多糖に，主成分のアスパラギン酸のほかグルタミン酸・スレオニン・グリシン・アラニン・セリンよりなるオリゴペプチドが結合したものであり，血清糖タン白の含水炭素部分に類似したものであることを明らかにした。また，肝細胞の顆粒別にアミノ糖とシアル酸との分布をしらべ，両者がマイクロソーム画分に最も多く，これについてミトコンドリア画分に多いこと，およびこれらの顆粒の糖脂質に含まれているアミノ糖とシアル酸は極めて少量であることから，これらの含水炭素は糖タン白の構成成分として顆粒の膜質の構成にあずかっていると推定している。

また，微生物の細胞表面を覆ってバクテリオファージに対する抵抗性を増すと考えられている粘性物質の研究のために，著者はガスエソ菌 (*Clostridium perfringens*) の1変異株をペプトン，牛肉エキス，グルコースよりなる培地に培養し，これが産生する粘質物を取り出しカラムクロマトグラフィーとエタノール分別沈澱によって分離，精製して3つの画分をえた。これらはいずれもグルコース・マンノース・ラムノース・グルコサミン・ガラクトサミンおよびウロン酸を構成成分とする多糖にアミノ酸またはオリゴペプチドが結合したヘテロ多糖であり，そのうちの2種は中性糖とウロン酸とを主成分とし，アミノ糖およびアミノ酸含量の小さいものであるが，他の1種はアミノ糖と中性糖が主成分で，これにアスパラギン酸数分子とセリン・スレオニン・グリシン・アラニンおよびプロリンよりなるオリゴペプチドが結合したムコポリペプチドであることを決定した。これらのヘテロ多糖にはシアル酸が含まれておらず，また，構成単糖類の種類やそれらの含有モル比などの点でも高等動物の糖タン白の含水炭素部分とは著しく異なるものであった。

つぎに，著者は上記の種々のムコ多糖に共通的に含まれているグルコサミンのアセチル化やこれがムコ多糖へとり込まれるための活性化の酵素的過程について鼠肝の無細胞系標品を用いて詳細に研究した。その結果を総括すると図のようになり，肝にはグルコサミンの活性型であるUDP-グルコサミンやUDP-N-アセチルグルコサミンの生成経路はいくつかあることがわかったが，肝のホモゲネートを遠心分離し



て細胞顆粒別に (I) から (X) までの過程の酵素活性をしらべると，(III)・(IV)・(V)・(VI)・(VII)・(VIII) および (IX) の酵素は上清にのみその活性が認められたのに対し，(I)・(II)・(X) は上清のほかミトコンドリアやマイクロソームに強い活性が認められた。特に (I) は，その機能が未だ解明されていないミトコンドリアとマイクロソームとの中間の密度をもつ顆粒に局在する。In vivo の実験では肝では

N-アセチルグルコサミンやグルコースよりグルコサミンの方が遙かに速かに糖タン白にとり込まれるから、著者はこれらの細胞顆粒は肝細胞における糖タン白の生合成に特別な重要な意義をもつものと考えている。

### 論文審査の結果の要旨

動物の保護組織や血液にはコンドロイチン硫酸・キチン・ヘパリン・血液型決定物質などのアミノ糖を含む糖タン白やムコペプチドが存在することが知られているが、他の生体成分にくらべるとアミノ糖含有物質の研究はかなり遅れており、その分布・化学構造・代謝などについては未解明のところが多く残されている。

著者泉邦彦の学位論文は、血清、肝などの動物組織の糖タン白や微生物の産生するムコペプチドを分離、精製し、これらの細胞内における分布、含水炭素部分の化学組成、アミノ酸の結合様式などを詳しくしらべ、また、肝におけるグルコサミンの代謝に関連する酵素について詳細な研究を行なって、数多くの新しい知見をえたものである。

まず、ヒトの血清から  $\alpha_1$ -Acid-glycoprotein を精製し、タン白分解酵素、Sialidase などを用いて部分的分解を行なって分子量約2,800の糖-アミノ酸複合体をえて、これがヘキソース・グルコサミン・フコース・アスパラギン酸・スレオニンなどよりなることをきめ、さらに、これら構成成分のモル組成、アミノ酸結合様式なども決定した。また、肝のホモゲネートに、三塩化酢酸、タン白分解酵素、核酸分解酵素などを繰返し作用させて糖タン白の補欠族である多糖をとり出し、これがヘキソース・メチルペントース・アミノ糖・シアル酸よりなるヘテロ多糖に、アスパラギン酸・グルタミン酸・スレオニンなどの結合したものであることをきめ、さらに、肝細胞ではこの糖タン白がミクロゾームやミトコンドリアなどの細胞顆粒に局在していることを明らかにした。つぎに、ガスエソ菌のつくる粘質物を分離、精製して三つの成分をえて、そのいずれもがグルコース・マンノース・ラムノース・グルコサミン・ガラクトサミン・ウロン酸よりなるヘテロ多糖に、アスパラギン酸またはこれを主成分とするオリゴペプチドが結合したムコポリペプチドであることをきめた。そして、動物組織の糖タン白の含水炭素部分はよく似た化学組成をもつが、微生物のものは動物のものと著しく異なることを指摘した。これらの結果はただにアミノ糖を含む特殊含水炭素の化学構造に関する研究として価値があるばかりでなく、生物界でのこの種の含水炭素の多様性やその生成に関し種々の重要な示唆を与える知見である。

また、著者は肝細胞におけるグルコサミンの糖タン白へのとり込みに関連する酵素について詳細にしらべ、グルコサミンの活性化に際し、このアミノ糖がまずアセチル化されてからリン酸化をうけ、さらに活性型のUDP-N-アセチルグリコサミンに変化する経路とグルコサミンのままリン酸エステルになり、UDP-グルコサミンとなって活性化される経路とがあるが、前者に関係する酵素はすべて細胞の上清にのみ存在するのに反し、後者の経路に関連する酵素はミクロゾームやミトコンドリアなどの顆粒にも存在することを確証した。In vivo には、肝ではグルコサミンの方がN-アセチルグルコサミンより遙かに速かに糖タン白にとり込まれることから、著者は細胞顆粒、特にその機能が不明の軽いミトコンドリアと呼ばれる顆粒などは糖タン白の生合成に重要な役割を演じていると推定している。

以上のように、著者泉邦彦の学位論文は未解明のところが多し糖タン白やムコペチドの研究分野の発展に寄与するところが大きく、また、論文を通して著者が生化学についての豊富な知識と優れた研究能力とをもちていることを認めることができる。

よって、本論文は理学博士の学位論文として価値があるものと認める。