

氏 名	重 定 勝 哉
	しげ さだ かつ や
学 位 の 種 類	理 学 博 士
学 位 記 番 号	理 博 第 240 号
学 位 授 与 の 日 付	昭 和 47 年 5 月 23 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	理 学 研 究 科 化 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	<b>Possible Occurrence of a Succinate-Glycine Cycle in <i>Rhodospirillum rubrum</i></b> (光合成細菌 <i>Phodospirillum rubrum</i> におけるコハク酸—グリシン回路の存在について)
論文調査委員	(主 査) 教 授 香 月 裕 彦    教 授 波 多 野 博 行    教 授 由 良 隆

### 論 文 内 容 の 要 旨

生体内において  $\delta$ -アミノレブリン酸はグリシンとサクシニル-CoA との縮合によって生じ、ヘムやクロロフィルなどのテトラピロール化合物の生合成の出発点となる重要な物質である。それにもかかわらず、これ以外の  $\delta$ -アミノレブリン酸の代謝経路については、ほとんど研究がなされていなかった。

申請者はテトラピロール生合成の研究によく用いられている光合成菌 *Rhodospirillum rubrum* の生菌および無細胞抽出液を用いて、 $\delta$ -アミノレブリン酸を経過する循環的代謝経路の存在を示唆する実験結果をあげることができた。

まず、第一の実験として、生菌に  $^{14}\text{C}$ - $\delta$ -アミノレブリン酸を与えたところ、放射能のかなりの量が  $\alpha$ -ヒドロキシグルタル酸およびグルタミン酸にとり込まれていることがわかった。

$^{14}\text{C}$  でラベルした基質としてそれぞれ、 $\delta$ -アミノレブリン酸の前駆体および誘導体と考えられるグリシンおよび  $\gamma$ ,  $\delta$ -ジオキソバレリアン酸を用いても、同様な  $^{14}\text{C}$  のとり込みが認められた。

ついで無細胞抽出液に、 $^{14}\text{C}$ -ジオキソバレリアン酸を加えても、上と同様な  $^{14}\text{C}$  のとり込みが見られた。この場合、反応系にあらかじめラベルしない  $\alpha$ -ヒドロキシグルタル酸を添加して反応を行わせると、 $^{14}\text{C}$  の  $\alpha$ -ヒドロキシグルタル酸へのとり込みが著増し、グルタミン酸へのとり込みは激減した。

これらの結果から、この菌には次のような循環的代謝経路が存在することを推測した。すなわち、グリシンとサクシニル-CoA との縮合によって生成した  $\delta$ -アミノレブリン酸は脱アミノ反応を受けてジオキソバレリアン酸となり、後者は順次、分子内酸化還元反応および脱水素反応を受けて、 $\alpha$ -ヒドロキシグルタル酸および  $\alpha$ -ケトグルタル酸を与える。 $\alpha$ -ケトグルタル酸の一部はアミノ化されてグルタミン酸を与えるが、他の部分は、脱水素酵素によって触媒されて、サクシニル-CoA となり元に戻る。

上の経路の反応のうちジオキソバレリアン酸から  $\alpha$ -ヒドロキシグルタル酸を与える反応はグルタチオンの介在する二段反応であり、グリオキサラーゼ型の酵素によって触媒される反応であることを明らかにした。また、 $\alpha$ -ヒドロキシグルタル酸から  $\alpha$ -ケトグルタル酸を与える反応はチトクローム  $\text{C}_2$  を中間

電子受容体とする新しい脱水素酵素によって触媒されることを明らかにした。 $\delta$ -アミノレブリン酸とジオキソバレリアン酸との間の反応については、アラニンをアミノ基供与体として加える時には、逆反応は容易に証明できたが、正反応は未知の理由により証明できなかった。

他の部分の反応は既知の反応であり、全反応のうち未解決の点が残されているのはジオキソバレリアン酸を与える反応のみであるが、トレーサー実験の結果を考慮して、本菌には上記循環的代謝経路が存在することを主張した。

参考論文 1-3 は上記光合成菌を用いてグルタミン酸合成の機構、ならびに  $\delta$ -アミノレブリン酸から導かれる新代謝中間体を扱ったものである。参考論文 4-5 は動物の 2 つのカルバミルリン酸合成活性のアロステリックな活性化による代謝調節機構を扱った優れた論文である。

### 論文審査の結果の要旨

光合成菌 *R. rubrum* は光嫌気条件下においても、また暗好気条件下においても生長することができ、代謝転換の機構を研究する上に優れた研究対象とされている。申請者は、本菌を用いて、種々の条件下におけるグルタミン酸合成の機構を研究中に、 $\delta$ -アミノレブリン酸を経由する新しい循環的代謝経路の存在を提唱するに至った。このコハク酸グリシン回路に関しては、かつて Shemin がこれに似た回路の存在を予想したことがあるが、その研究は実験的裏付けを欠くものであった。

申請者は巧みに条件の設定を行い、 $^{14}\text{C}$  でラベルした種々の基質を生体に与え、最初、グルタミン酸への放射能のとり込みを調べ、グルタミン酸合成機構には、条件により 2 種類以上の経路があることを推定した（参考論文 1, 3）。そのうち 1 つは新しい機構であるが（参考論文 1）、この研究が契機となり、コハク酸-グリシン回路を想定するに至った。縮合反応によって生成する  $\delta$ -アミノレブリン酸について、一部は新しい中間体である 5-アミノ-4-ヒドロキシバレリアン酸に変換されるが（参考論文 2）、他の一部はジオキソバレリアン酸を通じて環状代謝系に流されることを主張している。

環状代謝系の存在を主張する実験として、トレーサー実験、さらに、問題となる反応については無細胞抽出液または部分精製酵素を用いて証明を試みている。後者のうち、 $\delta$ -アミノレブリン酸からジオキソバレリアン酸を生成する反応については逆反応は証明できたが正反応については成功しなかった。しかし、この正反応については、他の菌について研究された例があるが、やはり成功をみていない。次の反応である  $\alpha$ -ヒドロキシグルタル酸に至る反応が、グリオキサラーゼによって触媒される反応と同型のものであることは、申請者の発見によるものである。次の反応である  $\alpha$ -ケトグルタル酸に至る脱水素反応は、既知の脱水素酵素とは多くの点で様子を異にする興味ある酵素であることを、申請者は見出している。

申請者の行った実証のうち部分的には未解決の点はあるが、多くの注目に値する事実を明らかにし、ほぼコハク酸-グリシン回路の存在することを明らかにすることができたことは高く評価することができる。

参考論文 4-5 は、いずれも動物のカルバミルリン酸合成の代謝調節機構に関する優れた研究である。この合成酵素には、尿素サイクルに寄与するものと、ピリミジン合成に与るものがある。前者の活性はアセチルグルタミン酸によって活性化されることが知られていたが、申請者はアセチルグルタミン酸の生成機構、酵素学的研究（参考論文 4）、ならびにアルギニンによる活性化（参考論文 5）、を明らかにし、

その調節機構を解明した。後者の酵素も、フォスフォリボシルピロリン酸によって活性化されるアロステリック酵素であることが申請者によって発見された（参考論文 6）。

よって、本論文は理学博士の学位論文として価値あるものと認める。