

氏名	香 西 義 雄 こう さい よし お
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	理 博 第 263 号
学位授与の日付	昭 和 47 年 9 月 25 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	デオキシヌクレオチドの代謝デオキシシチジンキナーゼ およびシトシンアラビノシドのリン酸化に関する研究
論文調査委員	(主 査) 教 授 香 月 裕 彦 教 授 波 多 野 博 行 教 授 高 浪 満

論 文 内 容 の 要 旨

DNA 合成の素材であるデオキシヌクレオシドトリリン酸の生合成には、ヌクレオシドリン酸誘導体の還元が始まる *de novo* の合成系と、DNA の分解によって生じたデオキシヌクレオシドを再利用して、トリリン酸にするサルベージ合成系とがある。申請者は、仔牛胸腺のサルベージ合成系に注目し、とくに重要なデオキシシチジンキナーゼを高度に精製し、その酵素学的諸性質ならびに調節機構について研究を行った。ついで DNA 合成の特異的阻害剤として使われているシトシンアラビノシドが、どのような段階で、また、どのような機構で、核酸合成を阻害するかという点について研究を行った。

デオキシシチジンキナーゼは約 400 倍に精製されたが、基質としては、デオキシシチジンの他に、シチジンおよびデオキシングアノシンが有効であった。リン酸供与体としては、デオキシ-CTP を除く多くのトリリン酸——とくに ATP, デオキシ GTP および CTP——が有効であった。反応にはこの他に、二価金属イオン、とくに Mg^{++} が必要であった。酵素活性は、デオキシシチジンまたは ATP に対し、*bimodal* な性質を示した。この系に CDP- または CTP- のデオキシ体を加えると、ATP に対し拮抗的に阻害作用を示し、また、デオキシシチジンに対しては混合型阻害を示した。その他、TDP- または UDP- のデオキシ体、または UDP など阻害効果を示した。この酵素活性が、CTP- および CDP- のデオキシ体により阻害を受けることは一種の最終産物阻害による調節と見ることができ、また UDP またはデオキシ-TDP によって阻害されることは一種の競合前駆体阻害による調節と考えられた。

デオキシシチジンは、キナーゼ反応により、順次、CMP-, CDP-, CTP のデオキシ体に合成される。各段階の反応は、それぞれに特異的なキナーゼ（最終段階はヌクレオシドジリン酸キナーゼ）によって触媒される。今、この酵素系にシトシンアラビノシドを与えると、順次、リン酸化を受けて、最終的にトリリン酸を与えることがわかった。換言すれば、アラビノシド及びリリン酸誘導体は上記酵素系の基質となることが明らかにされた。次に、シトシンアラビノシド系列の化合物は、化学構造の上から見れば、シトシン系列およびそのデオキシ体系列の化合物との間の中間的位置にあるので、いずれの系列を阻害するの

という点に注目され、研究が行われた。最初のキナーゼ反応——モノリン酸誘導体へ導く反応——において、デオキシシチジンとシトシンアラビノシドは、一方を基質とする時は他方はこれに拮抗的にはたらい、反応を阻害した。次のジリン酸誘導体へ導くキナーゼ反応においては、CMP およびそのデオキシ体およびアラビノシド誘導体の三者をそれぞれ基質とした場合、キナーゼ活性に及ぼす還元型および酸化型グルタチオンの効果が調べられた。さらに、後者の処理を行った場合については、再び還元型グルタチオンによる再賦活化の効果が調べられた。その結果、アラビノシド誘導体を基質とした場合には、CMP を基質とした場合とは異なる挙動を示し、デオキシ体の場合と全く平行する挙動を示した。このことから、シチジンアラビノシドは、そのリン酸化の過程において、デオキシチクレオシドまたはそのリン酸誘体の類縁体として働き、その結果、DNA 合成を阻害することが明らかにされた。

参考論文 1) および 2) は上記の線に沿った研究であるが、3) はデオキシチミジンキナーゼに相互に移行する分子量の異なる二つの型が存在し、両者が酵素学的性質および活性調節機構を異にすることを示した論文である。4) は 3) におけるキナーゼの一方の型から第三の型を導き、これは第四の酵素の作用のもとに、他方の型に移行することを示した論文である。

論文審査の結果の要旨

細胞増殖における DNA 合成には、その素材となる種々のデオキシヌクレオシドトリリン酸のバランスのとれた供給が必要である。これらデオキシヌクレオシドの合成系は極めて複雑な調節を受けていることが予想されるが、このことは、最近の研究により、次第に明らかにされてきている。ヌクレオチド化合物は、その構造類似性のため、特定の酵素に対する基質やエフェクターの特異性や生成物阻害などの諸点において、複雑な問題を生じ、その生合成系の調節機構を解明することは極めて困難な問題である。

デオキシヌクレオシドトリリン酸の合成系には、de novo の合成系と、DNA の分解によって生じたデオキシヌクレオシドの再利用系とがあるが、後者の系はあまり研究がなされていなかった。高等動物の血液やリンパ液などにもっとも多量に存在するデオキシヌクレオシドはデオキシシチジンであるが、これは再利用経路により、デオキシ-CTP ならびにデオキシ-TPP の前駆体となることが知られている。したがって、デオキシシチジンキナーゼは DNA 合成上とくに重要な位置をしめると考えられている。この酵素は大腸菌などについてはかなり研究されていたが、動物ではむしろ研究が遅れていた。

申請者は、DNA 合成が盛んでしかも多量に得やすい仔牛胸腺を用いて、この酵素を部分精製し、その酵素諸性質や調節機構について貴重な知見を得、この分野の発展に重要な貢献をした。高度に精製した酵素標品を用いて、まず、その一般的性質を明らかにした。酵素の調節機構に関する業績としては、種々のヌクレオチドおよびデオキシヌクレオチドなどによる調節に関して、かなり詳細に研究された。とくに、CTP- および CDP- のデオキシ体による最終産物阻害、ならびに UDP またはデオキシ-TDP による競合前駆体阻害を受けるという発見は、価値の高い業績と考えられる。

次になされたシチジンアラビノシドの作用機作に関する実験結果も価値ある研究といえよう。この化合物は DNA 合成の阻害剤として用いられてきたが、その阻害機構に関しては詳しい研究がなされていなかった。シチジンアラビノシドもしくはそのリン酸化された化合物は、ヌクレオチドならびにデオキシヌ

クレオチドの両系列の化合物に対し、構造類縁体としてはたらくと考えられるので、研究上の困難性が予想されていた。

申請者は、ヌクレオシドキナーゼ、モノリン酸キナーゼおよびジリン酸キナーゼの三段階に分けて、シチジンアラビノシドおよびそのリン酸化合物の効果を調べた。とくにモノリン酸誘導体のキナーゼ反応は、各基質の K_m 値が接近しているため、適当な濃度比の酸化型および還元型グルタチオンに対する挙動を調べるという巧妙な方法がとられ、これらの結果を総合して、シトシンアラビノシドが DNA 合成を阻害するという結論が得られた。

参考論文 1) および 2) は、上記の線に沿った研究であるが、3) および 4) は、デオキシシチジンキナーゼとならんで重要な調節酵素であるデオキシチミジンキナーゼについて、その調節機構に関係すると思われる分子種の異なる二つの型の性質や、一方から他方への移行機構に関する重要な現象を発見した研究であり、高い価値をもつものである。

以上を総合し、申請者の研究は DNA 合成の素材であるデオキシヌクレオチドの生合成の基礎研究に大きな貢献をなしたものである。

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。