

氏 名	う 鵜 たく ま 尾 琢 磨
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	農 博 第 1168 号
学位授与の日付	平 成 13 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	農 学 研 究 科 応 用 生 命 科 学 専 攻
学位論文題目	Enzymological Studies of D-Amino Acid Metabolism in Eucaryotes (真核生物における D-アミノ酸代謝に関する酵素学的研究)

論文調査委員 (主 査)
教 授 江 崎 信 芳 教 授 清 水 昌 教 授 天 地 輝 夫

論 文 内 容 の 要 旨

かつて、高等生物のもつ遊離アミノ酸は全て L-異性体からなると考えられていたが、近年の分析技術の向上に伴い、哺乳類をはじめとする高等生物の各種組織に、D-アラニンや D-セリンなどの D-アミノ酸が存在することが明らかにされ、これら D-アミノ酸の生理的な役割が注目を集めている。本研究は、エビ、カイコ、分裂酵母を主な研究対象とし、真核生物における D-アミノ酸の代謝に関与する酵素の酵素学的諸性質ならびに生理的役割を明らかにしたものである。その結果は以下のように要約される。

1. エビの肝臓よりアラニンラセマーゼを電気泳動的に均一状態に精製し、その諸性質を解明した。動物由来のアラニンラセマーゼとしては初めて、その実態を明らかにしたものである。本酵素は、同一サブユニットからなる二量体構造を持ち、微生物由来のアラニンラセマーゼと同様、ピリドキサル 5'-リン酸 (PLP) を補酵素として含有する。本酵素は、アラニンに対して高い特異性を示し、セリンに対して若干の活性を示すものの、他の中性アミノ酸や、酸性アミノ酸、塩基性アミノ酸、芳香族アミノ酸に対しては全く作用しなかった。本酵素は、細菌由来の酵素とは異なり、種々の一価陰イオンによって特異的に活性化されることを見いだした。従来より、エビを海水に馴化させると、組織中の遊離 D-アラニンの濃度が上昇することが知られており、D-アラニンが浸透圧調節に関与する可能性が指摘されていた。塩素イオンによる活性化を介して、本酵素はエビの浸透圧調節に直接関与する可能性を示した。

2. 遊離 D-セリンの生合成を司るセリンラセマーゼをカイコ蛹に見いだした。これは、動物にセリンラセマーゼが存在することを初めて明らかにしたものである。本酵素は、ヒドロキシルアミンなどのカルボニル試薬によって阻害され、PLP の添加により活性が回復することから、本酵素は PLP を補酵素として要求することを実証した。本酵素はセリンに対して高い特異性を示し、細菌由来のアラニンラセマーゼや低基質特異性アミノ酸ラセマーゼとは別種の酵素であることを見いだした。蛹期に本酵素活性は顕著となり、羽化が近づくにつれて活性は経時的に上昇し、さらに羽化直前に最も高い活性を示すことを明らかにした。D-セリン濃度はカイコの変態の時期に同調して上昇することを見いだし、本酵素がその生合成に直接関与することを実証した。

3. 分裂酵母より、種々の D-アミノ酸代謝関連酵素遺伝子をクローニングするとともに、生化学的、分子遺伝学的手法を用いて、各遺伝子産物の酵素学的諸性質、生理的意義を明らかにした。分裂酵母のアラニンラセマーゼはグラム陰性細菌から水平転移されたものである可能性を示し、D-アミノ酸オキシダーゼと協調して D-アラニンの資化に関与することを明らかにした。分裂酵母は、D-アルギニン、D-グルタミン、D-セリンなどの D-アミノ酸の資化能も有し、D-アミノ酸オキシダーゼがこれらのアミノ酸の資化に直接関与することを実証した。それとともに、D-アミノ酸オキシダーゼは、D-アミノ酸を分解することで、D-アミノ酸のもつ細胞毒性の軽減にも機能していることを明らかにした。分裂酵母には、このほかにもセリンラセマーゼやアルギニンラセマーゼなど、種々の D-アミノ酸代謝関連酵素が存在することを見いだし、それぞれの酵素学的諸性質や生理的な役割を明らかにした。

論文審査の結果の要旨

近年、哺乳類をはじめとする高等生物に、D-アラニンやD-セリンなどのD-アミノ酸が存在し、さらに、時期特異的および組織特異的に顕著な濃度変化がみられることから、D-アミノ酸の生理的役割が注目を集めている。しかしながら、これらD-アミノ酸の代謝に関与する酵素の実態は明らかではなく、D-アミノ酸の生理的意義の解明には至っていない。本研究は、エビ、カイコ、分裂酵母を主な研究対象とし、真核生物におけるD-アミノ酸の代謝に関与する酵素の酵素学的諸性質ならびに生理的意義を解明したものである。評価すべき点は次のとおりである。

1. エビの肝臓よりアラニンラセマーゼを均一状態に精製し、その酵素学的諸性質を明らかにした。また、塩素イオンによる活性化を介して、本酵素がエビの浸透圧調節に直接関与する可能性を示した。これは、動物におけるアラニンラセマーゼの生理的意義を精査した最初の例として評価できる。

2. D-セリンは、N-メチル-D-アスパラギン酸受容体に対する内在性のアゴニストであることが指摘されていたが、その生合成に関与する酵素の実態は不明であった。カイコ蛹にD-セリンの生合成を司るセリンラセマーゼが存在することを初めて見だし、カイコの変態の時期に本酵素活性とD-セリンの濃度が同調して上昇することを明らかにした。これは、カイコにおいてセリンラセマーゼがD-セリンの生合成を介して、ユニークな生理機能を果たすことを示した最初の例である。

3. 分裂酵母のD-アミノ酸代謝に関与する酵素の機能を系統的かつ詳細に調べた。分裂酵母のアラニンラセマーゼはグラム陰性細菌から水平転移されたものである可能性を示し、D-アミノ酸オキシダーゼと協調してD-アラニンの資化に関与することを明らかにした。D-アミノ酸オキシダーゼはさらに、D-アルギニン、D-グルタミン、D-セリンなどのD-アミノ酸の資化だけでなく、これらD-アミノ酸による細胞毒性の軽減にも関与することを初めて明らかにした。

以上のように本論文は、これまで不明であった真核生物におけるD-アミノ酸代謝関連酵素の酵素学的諸性質と生理的意義を明らかにしており、生化学および酵素学に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成13年1月11日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。