



Title	D-テトロース代謝酵素、およびD-テトロース調製法に関する研究
Author(s)	菅野、浩一
Citation	大阪大学, 1964, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/28783">https://hdl.handle.net/11094/28783</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

## 【 1 】

氏名・(本籍)	菅野浩一
学位の種類	薬学博士
学位記番号	第 583 号
学位授与の日付	昭和 39 年 7 月 31 日
学位授与の要件	薬学研究科応用薬学専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	D-テトロース代謝酵素、および D-テトロース 調製法に関する研究
(主査)	(副査)
論文審査委員	教授 上原喜八郎 教授 川崎近太郎 教授 青沼繁

## 論文内容の要旨

ヘキソース、ペントースの代謝に関する酵素についてはすでに多くのことが知られているが、D-テトロースの代謝に関しては、研究報告も少ない。特に D-テトロースについては、D-エリスロース 4 リン酸がペントリースリン酸の代謝過程で生成すること、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン等の生合成過程で、それらの前駆物質とされているシキミ酸の生合成素材であることなどが報告され、近年興味がもたれてきたがそれ以外には未だ詳しいことは知られていない。

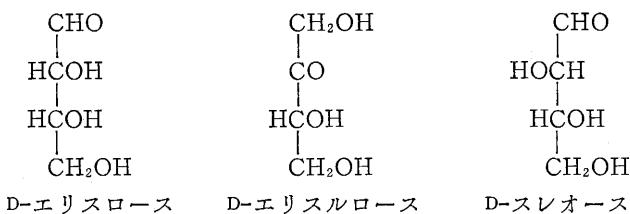
1952 年上原らは、単糖類の生化学的生成に関する一連の研究過程において、D-エリスロースにウサギ筋肉ホモジネートを加え、Willstätter-Schudel の方法によって還元力の変化を検べると、時間の経過に伴って還元力が減少することを認め、反応生成物を検索する目的で反応液に p-ニトロフェニルヒドラゾンを加えると、D-エリスロースの p-ニトロフェニルヒドラゾンとは異なる他のテトロースの p-ニトロフェニルヒドラゾンを得た。先の還元力が減少することと考え合わせて、そのものは D-エリスロースの p-ニトロフェニルヒドラゾンであろうと推察しウサギ筋肉中には D-エリスロースが D-エリスルロース に異性化する反応を促進するイソメラーゼが存在することを示唆した。著者はこの実験結果に基づいて、D-テトロース代謝酵素の存在とその性状を明らかにする目的で本研究に着手した。

本研究を進めるにあたってまず第 1 の課題は、純粋な D-テトロースを得ることであった。D-エリスロースの調製法としては種々の報告があるが、いずれも D-グルコース、D-アラビノース、あるいはそれらの誘導体を分解して炭素鎖を短くする方法であって、テトロースはシラップ状にのみ得られ未だ結晶状には得られていないために、分解産物中に含まれている不純物と D-エリスロースとを完全に分離することは極めて困難である。それらの方法の中で従来最もよく知られているのは、D-アラボン酸カルシウムを過酸化水素で酸化する Ruff の方法であるが、この方法で得られるものは多量の

不純物を含んでいる。Ruff 法以外の二, 三の方法についても検討を加えたが満足すべき結果は得られなかった。そこで著者は D-エリスロースを精製する方法として Dowex 1 ホウ酸塩型カラムクロマトグラフィーを試みた。Ruff 方法によって調製した D-エリスロースを、まず Amberlite IR 120 ( $H^+$  型) および Duolite A 4 ( $OH^-$  型) 樹脂で処理してイオン性の不純物を除いた後、Dowex 1 ホウ酸塩型樹脂を用いてクロマトグラフィーをおこない純粋な D-エリスロースを得ることに成功した。

また、D-エリスルロースの調製に関しては、D-マンニトールからイソプロピリデン D-グリセリンアルデヒドを経てイソプロピリデン D-グリセリン酸クロライドを調製しその酸クロライドとジアゾメタンを縮合して、生じたジアゾケトンを加水分解すると D-エリスルロースが生成するという Iwadare の報告があるのみである。実際にその方法に従って D-エリスルロースの合成をおこなったが、収量も低い上に、得られたシラップはペーパークロマトグラム上 3 ~ 4 個のスポットを示した。

D-リブロース、D-キシリロース、シハイドロキシアセトンなどについては、それぞれ相当するアルドースをピリジン中で加熱すると得られることが知られている。Iwadare は、D-スレオースをピリジンと加熱しても D-エリスロースは得られなかつたと述べているが、著者は D-エリスロースをピリジン中で加熱すると、ペーパークロマトグラム上に新しいスポットがあらわれ、D-スレオースをピリジン中で加熱した時にも同一のスポットが生じることを認めたので、その物質を Dowex 1 カラムクロマトグラフィーによって分離し、それが D-エリスルロースであることを、 $\alpha$ -ニトロフェニルヒドラゾンにして確認した。このようにして、従来調製が困難であった D-エリスルロースを D-エリスロースから比較的容易にかつ純粋に得る方法を確立した。



D-テトロースの調製に関する問題点が解決したので、ついで酵素化学的実験を進め、ウサギ筋肉、ウシ肝臓などの動物組織およびパン酵母に、D-エリスロースを代謝する強い酵素活性が含まれていることを認めた。

本研究を進めるにあたって第 2 の課題になったのは、D-テトロース代謝酵素を可溶性に得ることであった。ウキギ筋肉およびパン酵素を可溶性に得る試みは成功しなかつたが、ウシ肝臓から可溶性酵素を得ることに成功し、若干精製し得たのでその性状を検べ、次のような実験結果を得た。

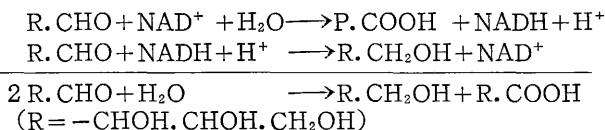
1. D-エリスロースにウシ肝臓の酵素を加え、Willstätter-Schudel の方法により還元力の変化を調べると、時間の経過に伴つて還元力が減少する。反応中に酸素吸収、炭酸ガスの発生、 $340 \text{ m}\mu$  における吸光度の変化はほとんど認められなかつた。
2. 反応の至適 pH は、pH 6.0 と pH 7.5 に認められた。ヘキソースおよびペントースに対しては作用を示さないが、D-スレオースに対しては、D-エリスロースに対するよりも強い活性を示した。
3. D-エリスロースを基質とした反応液から反応生成物としてエリスリトールおよび D-エリスロ

ン酸をペーパクロマトグラフィーによって検出した。D-スレオースを基質とした場合の反応生成物はD-スレイトルとD-スレオン酸であった。

4. 若干精製した酵素液をアルミナ CY ゲルで処理すると、吸着されない成分 (A) と、吸着されるクエン酸ナトリウム液によって溶出される成分 (B) が分離した。A, B それぞれ単独ではほとんど活性を示さないが、両者を合わせると顕著な活性を発現する。

4に述べたことは本酵素の特に興味深い性質であり、この活性発現に必要な2成分の性質を解明することが、本研究の第3の課題となった。検討の結果、A, B のいずれか一方を加熱すると活性は発現しなくなること、A, B ともアセトンによって、多少の失活はあるがそれぞれ沈殿し、透析はされないこと、A は NAD (Nicotinamide-adenine dinucleotide) によっておきかえがるが NADP(Nicotinamide-adenine dinucleotidephosphate) は無効であること、などが明らかになった。従って A は結合型未知物質であり、B は酵素たんぱくであろうと推察される。

従来 D-テトロースに対して直接作用する酵素についてはほとんど知られていなかったが、以上の結果から、A の存在下、恐らく次式に示すような機構によって、D-テトロースがそれに相当する酸とポリオールに変化する反応 (dismutation) を触媒する酵素が、動物組織中に含まれていることを明らかにすることができた。



### 論文の審査結果の要旨

高等動物の体内におけるテトロースの代謝に関しては今日なお不明の点が多い。

本論文の内容はテトロースの代謝に関与すると考えられる牛の肝臓と酵素と本研究を進める上に必要であるテトロースの精製法に関するものである。

D-エリスロース、D-エリスルロースの純粋のものを得ることは従来の方法では困難であったが、D-エリスロースは粗製のものをイオン交換樹脂 Amberlite IR 120 ( $\text{H}^+$  型) および Duolite A 4 ( $\text{OH}^-$  型) を用いて精製し、また D-エリスルロースは粗製のものを Dowex 1 カラムクロマトグラフィによって精製し得ることを明らかにした。次に牛の肝臓中には D-エリスロースの dismutation を促進すると考えられる酵素が含まれていることを明らかにし、この酵素の精製を行ない、二三の性状を明らかにした。即ち、この dismutation は pH 6.0 と pH 7.5 において最も速やかに行なわれ、D-エリースロースを基質とした場合はエリスリトルと D-エリスロン酸をまた D-スレオースを基質とした場合はスレイトルと D-スレオン酸を検出した。また酵素をアルミナゲルを用いて精製すると吸着される成分と吸着されない成分に分離され各成分は単独はほとんど活性を示さないが両者を合すると顕著な活性が発現することを認めた。

本研究の結果は動物の体内におけるエリスリトール生成の機構を示唆するものであり、またこれに  
関与する酵素の性状に関して酵素化学の分野に興味深い事実を明らかにしたもので、本論文は薬学博  
士の学位を授与するに十分な価値があるものと認める。