



Title	高等動物におけるセリンの生成系について
Author(s)	但野, 道臣
Citation	大阪大学, 1965, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/29006">https://hdl.handle.net/11094/29006</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">＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"&gt;https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> >大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

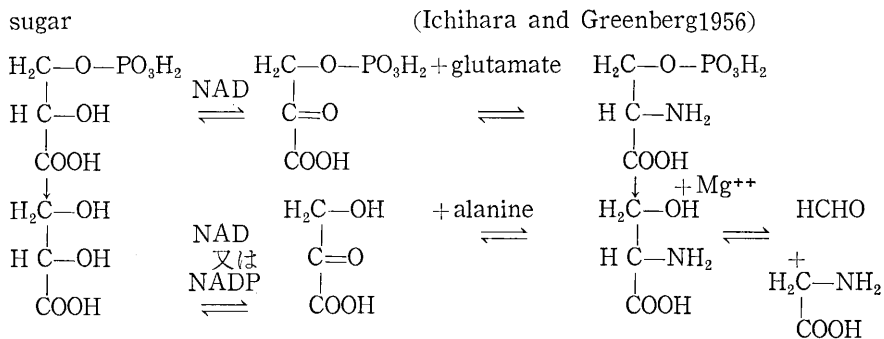
氏 名・(本籍)	但 野 道 臣 ただ の みち おみ
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	第 7 5 7 号
学位授与の日付	昭 和 40 年 6 月 15 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学 位 論 文 題 目	高等動物におけるセリンの生成系について
論文審査委員	(主査) 教 授 武田 義章 (副査) 教 授 須田 正巳 教 授 坂本 幸哉

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 〔目 的〕

高等動物におけるセリンの生合成経路については従来より次の様な 3 つの可能性が考えられていた。①glycine+formaldehyde $\rightleftharpoons$ serine, ②3-phosphoglyceric acid $\rightarrow$ 3-phosphohydroxypyruvic acid $\rightarrow$ phosphoserine $\rightarrow$ serine, ③3-phosphonoglyceric acid $\rightarrow$ glycericacid $\rightarrow$ hydroxypyruvic acid $\rightarrow$ serine. 我々は②の経路を行なわれるものと考え得る事実の証明を得たのでここにのべる。

#### serine 生成経路



#### 〔方法及び結果〕

a) 必須アミノ酸及び glutamic acid の混合を窒素源とする合成食で 4 日間飼育せるネズミの肝のホモジネートの遠心上清 (100,000 $\times$ g, 60 分間) を一夜透析後使用した。

b) 反応条件: 肝抽出液 2.5 ml, glutamic acid 10 $\mu$  moles, 3PGA20 $\mu$  moles, NAD10 $\mu$  moles,

MgSO<sub>4</sub> 50 $\mu$  moles, アミノプテリン 10 $\mu$ g, phosphatebuffer 250 $\mu$  moles pH 7.2, 37°C で1時間振盪。

c) セリンの定量反応液を10%の trichloroacetic acid で除蛋白後 Dowex-50.4x のカラムに通しセリンを吸着せしめカラムをよく水洗後, 4NHCl でセリンを溶出した。溶出後溶出液で中和し, セリンを Frisell 等の方法で定量した。

1) セリンを全く含まない完全合成食で飼育したネズミ肝のホモジネートの遠心上清 (100,000 $\times$  g, 60分間) を炭素骨格, glutamic acid, 3-phosphoglyceric acid, 助酵素 (NAD) と incubate することによりセリンの形成がみられた。

2) 3-phosphoglyceric acid を炭素骨格として, セリン形成の為に必要な種々の添加物の影響を調べたところ, アミノ基供与体としては glutamic acid が, 助酵素としては NAD のみが促進効果を示し, 又, pyridoxalphosphate の添加効果は特にみられなかった。

3) この肝のセリン形成能はネズミを種々の食餌で飼育することにより大きく変動した。セリンを含まない食餌の場合高く, serine, cystine, glycine, を含んだ場合は低く, 市販の固型食の場合には全く serine の形成は見られなかった。

4) セリンを含まない食餌で飼育したネズミ肝の粗抽出液を硫酸により分画し濃縮したところ27~44%の分画に 3-phosphoglyceric acid の脱水素活性が見られた。この反応は NAD とのみ共転し NADP と全く共転しなかった。

5) この活性は使用した酵素量にほぼ比例しその至適 pH は 10.0であった。

6) serine の生成活性は F<sup>-</sup> により完全に阻害されるが, 同一濃度の F<sup>-</sup> の存在下でも NAD の還元反応には全く影響がみられない。

7) 肝における serine 生成能が種々の食餌により変動するのとちょうど対応して, 3-phosphoglyceric-acid dehydrogenase の活性も変動した。食餌中に serine, glycine, cystine, を添加した場合脱水素酵素の活性は低下し, 又カゼイン食, 市販の固型食の場合はさらに低下した。

#### 〔総括〕

目的においてのべた様に serine の生合成については3つの経路が考えられていた。同位元素追跡法による実験の結果は serine の炭素骨格の殆んど大部分が糖代謝路から由来することを示している。glycine は serine の前駆体ではなく①の経路は glycine の合成の為に反応であると考えられている。又 C<sup>14</sup> でラベルされたブドウ糖及び焦性ブドウ酸を用いた実験は焦性ブドウ酸ではないブドウ糖により近い解糖系上の3つの炭素有する中間物から枝分れして serine が形成されることを物語っている。市原及び Greenberg は, ネズミの肝から phosphoserine-glutamate-transaminase を見出し②の経路を推定した。Sallach は serine-alanine-transaminase, glyceric acid dehydrogenase (NAD 及び NADP 共にほぼ同じ速度で共転) を見出し③の経路の可能性を考えている。しかしながらカイコ, 細菌等における serine の生成はむしろ市原, Greenberg の経路を経て行なわれるものと考えられている。高等動物において最終的な結論が得られなかったのは市原, Greenberg の経路において 3-phosphoglyceric acid dehydrogenase が実在する事実についての証明がなされていなかった為である。この論文は成績の4)でのべた如くアミノ基供与体, 及び助酵素等の要求の特異性から,

市原, Greenberg らの経路がより妥当と思われ, 更に 3-phosphoglyceric acid dehydrogenase のネズミ肝臓における存在が証明出来た。しかしながらこの dehydrogenase は細菌の場合とは異なり serine, glycine, phosphoserine 等によりいわゆる endproduct inhibition をうけないことから serine 食を摂取する事に起因する肝中の酵素活性の低下は endproduct repression によるものと考えられる。糖代謝から蛋白代謝への分岐点であるこの酵素のネズミ肝臓中における存在, その性質ならびにこの酵素がうける代謝調節について述べた。

## 論文の審査結果の要旨

よく知られている様に, 高等動物では, 非必須アミノ酸は生体内殊に肝臓において生合成される。これら非必須アミノ酸の中で, セリンの生合成経路に関しては, 従来大別して次の 3 つの経路が提唱されて来た。

第一は  $\text{glycine} + \text{formaldehyde} \rightleftharpoons \text{serine}$

第二は  $3\text{-phosphoglyceric acid} \rightleftharpoons 3\text{-phosphohydroxy-pyruvic acid} \rightleftharpoons \text{serine}$

第三は  $3\text{-phosphoglyceric acid} \rightleftharpoons \text{glyceric acid} \rightleftharpoons \text{serine}$

この 3 つの Pathway で, 第一は, むしろセリンからグリシンが生成する役割をもち,  $\text{C}^{14}$  でラベルした glucose から, セリンが形成される比重が非常に多いことが知らされている。

すると, 第二及び第三の pathway が問題であるが, 同じく 3-Phosphoglyceric acid を出発点として, 第二の pathway phosphoserine を経由して, この次の step で脱リン酸が起りセリンを形成するのに対し, 第三の pathway は, はじめから脱リン酸が起り hydroxypyruvate を生ずる。

第二の経路が未だ承認されない理由は, 3-phosphoglyceric acid の脱水素酵素が, 動物肝臓で未だ見出されていない点である。第三の経路の難点は, 3-phosphoglyceric acid を脱リン酸する phosphatase が見出されていない事であった。事実, 種々の条件下でも, この脱リン酸反応は見出されなかった。

そこで, 著者はこの点を深く考慮し, ダイコク鼠を固型食で飼育した場合は, 従来の報告通り, 3-phosphoglyceric acid から serine の生成もなく, 又, この基質を脱水素する酵素活性も見出されないことを一方で再確認しつつ, 他方, ダイコク鼠をアミノ酸混合を含む合成食で飼育し, このアミノ酸混合から serine 及び glycine を除いて, 4 日間動物を飼育した後, 肝臓の抽出遠心上清について, 3-phosphoglyceric acid から serine の生成及び, この基質の脱水素酵素を測定した。その結果 serine glycine を除いた合成食で飼育した場合は, 上記基質からの serine 生成と, 脱水素酵素活性が, 顕在化することを認め得た。しかも第二の pathway では, 脱水素酵素の助酵素は NAD のみであり次の step の transaminase の amino-donor, は glutamic acid が最も適当であることも合わせて明らかとなった。第三の pathway では glyceric acid の脱水素酵素の助酵素は NAD 及び NADP 両者共有効で, 次の step の transaminase の amino donor は glutamic acid のみならず alanine も有効であることが Sallach (1955年) によって明らかにされている。

以上の事実は serine 生合成経路が、第二の pathway で行なわれるという著者の見解を支持するものである。serine それ自体は、部分的に精製した 3-phosphoglyceric acid 脱水素酵素を阻害しないし、アミノ酸混合食餌にセリンを添加すると、脱水素酵素活性は、減少することからして、著者は serine 生合成の調節は、恐らく dietary に外から与えられる serine が feed back repression の機構で糖代謝から枝分れする key enzyme 活性を変動させているものと考えている。

以上の著者の実験は、feed back mechanism の見地から serine の生合成経路について従来の不明の点を明らかにしたものであって、学位論文として推賞に値するものである。