



| | |
|--------------|--|
| Title | γ-グルタミルアミンの分離同定とその合成および分解酵素に関する研究 |
| Author(s) | 辻, 元弘 |
| Citation | 大阪大学, 1977, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/31582 |
| 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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 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

| | |
|---------|--|
| 氏名・(本籍) | 辻 元 弘 |
| 学位の種類 | 医学博士 |
| 学位記番号 | 第 3885 号 |
| 学位授与の日付 | 昭和52年3月25日 |
| 学位授与の要件 | 医学研究科 生理系 学位規則第5条第1項該当 |
| 学位論文題目 | γ-グルタミルアミンの分離同定とその合成および分解酵素に関する研究 |
| 論文審査委員 | (主査) 教授 垣内 史朗 (副査) 教授 吉田 博 教授 和田 博 |

論文内容の要旨

〔目的〕

最近脳におけるポリアミンの代謝の研究からプロレスチンがγ-グルタミル化をうけることが明らかになり、さらに牛の脳よりγ-グルタミンプロレスチンが分離同定された。それに引き続きγ-グルタミルヒスタミンの脳内形成も明らかになった。これらの知見より脳内アミンとくに脳の芳香族アミンもγ-グルタミル化をうけ何らかの生理作用を有するのではないかと考えられる。本研究はこれらの脳内アミンがγ-グルタミル化をうけるか否かを検討し、さらにその生合成および分解に関与する酵素について検索を進め、アミノ酸の膜の輸送の場合に想定されているγ-グルタミルサイクルのごとき機作が、脳の芳香族アミンに関しても考えられるか否かを検討するための基礎的知見を提供することを目的とする。

〔方法ならびに成績〕

γ-グルタミルアミンの合成： α -γ-グルタミルヒドラジドとアミンをアザイド法により結合させ、生成物を接触還元したのち、γ-グルタミルアミンをイオン交換クロマトグラフィーを用いて精製した。

γ-グルタミルアミンの分離同定： β -フェニールイソプロピールヒドラジンで前処置したラットの脳室内に放射性 p -チラミン、ドーパミン、ノルアドレナリンあるいはセロトニンを投与し、投与後30分で脳を取り出し、トリクロロ酢酸中でホモジネートとし、遠沈して酸可溶性分画をえた。この分画から放射能を指標にし、Dowex50, Amberlite IR-120, Dowex 1 およびエステル化したAm Amberlite CG-50を用いてイオン交換クロマトグラフィーを行ない、放射性γ-グルタミルアミン

を精製した。 γ -グルタミルドーパミンの精製は、脳を硫酸一アルコール中でホモジネートとし、遠沈後上清をアルミナカラムに通して水洗後酢酸でカテコール体を溶出したのち、Amberlite CG-50, pH 6.5でカテコールアミンを除去し、さらにエステル化したAmberlite CG-50上でイオン交換クロマトグラフィーを行ない精製した。これらの精製した放射性 γ -グルタミルアミンの同定は1) これらの物質が弱酸水解により容易に分解され、その放射能がもとのアミンの部位に移動することならびに2) イオン交換クロマトグラフィー、3) 沖紙クロマトグラフィー、および4) 高圧沖紙電気泳動上の性質が合成品のそれと一致することによって行なった。

γ -グルタミルアミンの生合成： γ -グルタミルアミンの生合成に関与する酵素として γ -グルタミルトランスペプチダーゼを想定し、Meisterらの方法でラット腎臓より100倍に、脳より20倍に精製し、アミノ酸を受容体にした場合とアミンを受容体にした場合との比活性を比較検討した。各精製段階で両者の場合の比活性の上昇率はよく一致した。このことから γ -グルタミルアミン生合成酵素は γ -グルタミルトランスペプチダーゼであると考えた。さらに精製酵素標品を用いてアミノ酸を受容体にした場合とアミノを受容体にした場合の活性を比較した結果、後者は前者の1/20~1/100程度の活性であった。

γ -グルタミルアミンの代謝： γ -グルタミルアミンの代謝分解に関与する酵素として γ -グルタミルシクロトランスフェラーゼを想定し、Meisterらの方法で腎臓より90倍に、脳より15倍に精製し、 γ -グルタミルアミノ酸を基質とした場合と γ -グルタミルアミンを基質にした場合との比活性を比較検討した。脳を用いた実験では、両者の比活性の上昇率はよく一致したが、腎臓を用いた場合には γ -グルタミルアミノ酸を基質にすると酵素は90倍に精製されたが、 γ -グルタミルアミンを基質にした場合はpH処理の段階で失活した。したがって脳の γ -グルタミルシクロトランスフェラーゼと腎臓のものとは、 γ -グルタミルアミンの分解に関しては異なった酵素によるものと考えられた。さらに脳における γ -グルタミルアミンの分解は γ -グルタミルアミノ酸にくらべて比活性では1/20~1/100であった。

〔まとめ〕

- (1) ラットの脳室内に放射性p-チラミン、ドーパミン、ノルアドレナリンおよびセロトニンを投与し、これらのアミンが γ -グルタミル化をうけることを証明した。
- (2) γ -グルタミルアミンの生合成に関与する酵素として γ -グルタミルトランスペプチダーゼが関与していることを証明した。
- (3) 脳における γ -グルタミルアミンの代謝分解に関与する酵素は γ -グルタミルシクロトランスフェラーゼであることを明らかにし、さらに脳の場合と腎の場合とでは異なる酵素で分解されることを示唆する知見を得た。

論文の審査結果の要旨

この研究は、脳内芳香族アミンであるP-チラミン、ノルアドレナリン、ドーパミン、セロトニンが脳で γ -グルタミル化をうけることを明らかにし、更にその合成酵素並びに分解酵素についても実験的検討を加えたものである。

神経伝達物質候補としてこれらのアミンの、脳における動向の、一つの新しい側面を開拓したものとして、この研究は評価される。