Osaka University Knowledge Archive

| | |
|---|---|
| Title | Saccharomyces uvarumにおけるトリプトファン代謝に関する研究 |
| Author(s) | 新, 眞理子 |
| Citation | 大阪大学, 1991, 博士論文 |
| Version Type | VoR |
| URL | https://doi.org/10.11501/3058291 |
| rights | |
| Note | |

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

【 6 】

| | |
|---|---|
| 氏　　名 | 新（しん）　眞（ま）理（り）子（こ） |
| 博士の専攻分野の名称 | 博　士（薬　学） |
| 学位記番号 | 第　9893　号 |
| 学位授与年月日 | 平成3年9月12日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第2項該当 |
| 学位論文名 | ***Saccharomyces uvarum* におけるトリプトファン代謝に関する研究** |
| 論文審査委員 | (主査)<br>教授　近藤　雅臣<br>(副査)<br>教授　馬場　明道　教授　西原　力　教授　三村　務 |

## 論文内容の要旨

トリプトファンは，タンパク合成の素材やエネルーギー源としてだけでなく，酸化還元酵素の補酵素であるNAD（P）神経ホルモンとしてのセロトニンやメラトニンをはじめとする多彩な生理活性物質に変換され，多岐にわたる代謝は他のアミノ酸に例を見ないほどであり，化学的あるいは生物学的見地からも代謝研究の重要性はよく認識されてきた。しかしながら，酵母に於けるトリプトファン代謝に関する報告は極めて断片的であり，トリプトファン代謝の全体的な流れを定量的に解析した報告はない。著者は，酵母 Saccharomyces uvarum（carlsbergensis）に於けるL－トリプトファン代謝を，芳香族アミノ酸の特性を利用した簡便な方法で定量的に解析した結果，かなりの割合でタンパク合成へと流れ，アミノ酸の基本的な役割の重要性が再確認できた。高濃度のトリプトファン添加時には2－H遊離反応（transaminase フラックス）が著しく増加したのに対し，NAD合成に関わるalanine 遊離反応（Kynureninaseフラックス）は，培地や増殖時期の如何によらず極めて細い流れであり，両反応のトリプトファン濃度に依存した特性の違いを明らかにした。このような代謝の様相は他の Saccharomyces 属でも認められた。2－H遊離反応による主代謝物としてトリプトホールを同定し，他にキヌレン酸ならびにインドール酢酸を検出した。代謝物総量と2－H遊離反応を介する代謝フラックスの値はよく一致した。トリプトホールにいたる代謝経路の概略は，トリプトファン→インドールピルビン酸→インドール－3－アセトアルデヒド→トリプトホールであり，この流れは高濃度のトリプトファン添加で著しく増大した。

ナイアシン合成は，補酵素としてのNAD（P）の重要性を反映しており，好気的に増殖した酵母では動物肝と同様に，トリプトファンからも de novo 合成されることはすでに知られているが，生合成経路の詳細ならびにその調節に関する報告は限られており，いまだ推測の域を出ていない。著者は，

種々の前駆体からのナイアシン合成能を検討し，トリプトファンとキヌレニンとの間にナイアシン合成能の大きな差を認め，代謝酵素の反応律速性に由来することを示した。ナイアシン生合成の詳細を知るてがかりとして，放射性キヌレニンを使用してフラックスならびに代謝物両面からキヌレニン代謝を解析した。2－H遊離反応によるキヌレン酸生成が圧倒的に太い流れであることを認めた。また前駆体がトリプトファの場合に比べてKynureninaseフラックスが著しく増加し，しかも3－ヒドロキシキヌレニンならびにナイアシンの細胞内レベルが上昇していることから，トリプトファンからキヌレニンに至る過程がナイアシン生合成における律速段階であることを明らかにした。Acetyl－CoAフラックスはほとんど検出されず，動物肝の完全酸化系への流れの太さとの相違が明らかとなった。

酵母では，L－Kynurenine 3－hydroxylaseは酸素の存在で活性化され，その結果トリプトファン－ナイアシン合成系が作動することからナイアシン生合成における唯一の律速酵素として報告されてきたが，著者はトリプトファンからキヌレニンに至る段階もさらに調節をうけている可能性を示した。グルコースがナイアシン生成に対して抑制的に働いていることを示し，catabolite repression解除作用を持つ外来性ヘミンの添加により，Kynureninaseフラックスにいたる段階に特異的に作用してナイアシン生成が増加したが，derepression時の添加効果は認められなかった。また，ヘミン添加培養によるミトコンドリア機能ならびにヘム含有酵素活性の促進を認めた。ヘミンによるcatabolite derepressionによりミトコンドリア機能ならびにヘム合成が促進され，ミトコンドリアに局在するL－Kynureninase 3－hydroxylase活性ならびにヘムを要求するトリプトファンのインドール環開裂活性が増加することによりKynureninase フラックスが増加しナイアシン生成が促進される可能性を示した。さらに，酵母におけるトリプトファンのインドール環開裂活性を初めて検出し，多分子種の存在を明らかにした。性質を既知の酵素と比較した結果，tryptophan 2，3－dioxygenaseと同様に還元型pyridine nucleotidesで阻害され本活性がナイアシン生合成に重要な役割を持つ可能性を示した。

ヒトにおけるナイアシン欠乏症として知られているペラグラ発症の一原因としてロイシンが報告されているが，単純化したモデル系として真核細胞である酵母を用い，ロイシンによるナイアシンレベル低下機序の解明を試みるとともに比較生化学的な観点から検討を加えた。多量のロイシンの添加はトリプトファンの細胞内への取り込みを抑制し，ナイアシン，トリプトホールならびにキヌレン酸の生成を強く抑制したが，キヌレニンレベルは増大し，取り込み抑制以外に代謝系への抑制が示唆され，酵素活性の検討からも裏づけられた。長期培養では，前駆体がトリプトファンならびにキヌレニンの場合にはロイシンによるナイアシン合成抑制が認められ，3－ヒドロキシアントラニル酸では認められないことから，キヌレニンから3－ヒドロキシアントラニル酸に至る段階をロイシンの作用点として想定した。Saccharomycesから初めて部分精製したL－Kynurenine 3－hydroxylase活性に対して種々のケト酸が強い阻害作用を有することを見いだし，ロイシン添加時に生成する$\alpha$－Ketoisocaproateが酵母におけるナイアシン生合成抑制の一因である可能性を指摘した。ラット肝酵素ではケト酸による阻害は認められず，酵母酵素との相違を明らかにした。

## 論文審査の結果の要旨

酵母におけるトリプトファン代謝の全体像を明らかにし，その中でのナイアシン合成フラックスの割合ならびにナイアシン生合成経路の調節の一端を明確にした。また，ペラグラの原因解析に単純なモデルとして酵母を用い上記の研究成果を基礎としてロイシンによるナイアシンレベル低下機序の解明に基礎的知見を加えた。これらの研究成果は博士（薬学）の学位授与に値するものと判定した。