

# CATABOLITE REPRESSION OF INOSITOL DEHYDROGENASE AND GLUCONATE KINASE SYNTHESSES IN BACILLUS SUBTILIS

メタデータ	言語: jpn 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-23 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 二橋, 純一 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/1299">http://hdl.handle.net/10271/1299</a>

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 22号	学位授与年月日	昭和62年 2月20日
氏名	二橋純一		
論文題目	CATABOLITE REPRESSION OF INOSITOL DEHYDROGENASE AND GLUCONATE KINASE SYNTHESSES IN BACILLUS SUBTILIS (枯草菌におけるイノシトール脱水素酵素及びグルコン酸キナーゼ 合成の異化代謝物抑制)		

## CATABOLITE REPRESSION OF INOSITOL DEHYDROGENASE AND GLUCONATE KINASE SYNTHESSES IN BACILLUS SUBTILIS

( 枯草菌におけるイノシトール脱水素酵素及びグルコン酸キナーゼ合成の異化代謝物抑制 )

### 論文の内容の要旨

異化代謝物抑制は培地中に存在するグルコース等の代謝されやすい炭素源によって異化代謝酵素が抑制される現象である。大腸菌における異化代謝物制御はサイクリックAMP ( cAMP ) と cAMP レセプター蛋白 ( CRP ) による遺伝子発現の正の制御として解され、異化代謝物制御における cAMP の役割については分子レベルでの解明が行われてきた。しかし枯草菌には cAMP やアデニル酸サイクラーゼは存在せず、その異化代謝物抑制の機構は明らかにされていない。そこで本研究では、枯草菌のイノシトール脱水素酵素及びグルコン酸キナーゼ合成の異化代謝物抑制を対象にこの cAMP に依存しない異化代謝物抑制の機構を探究した。

〔方法〕 イノシトール脱水素酵素及びグルコン酸キナーゼの活性測定の見出し、その条件下でこれら両酵素の誘導が種々の炭素源や化合物を加えた場合、どのように変化するかを検討した。

さらに、エムデン・マイヤーホフ代謝経路の種々の突然変異株を用いこれらの変異株が代謝できない炭素源で酵素誘導が抑制されるかどうかを検討した。

〔結果と考察〕 イノシトール脱水素酵素とグルコン酸キナーゼは各々イノシトール又はグルコン酸で誘導されるが、これらの誘導は異化代謝物抑制を受けていた。この異化代謝物抑制は培地中に cAMP を添加することによっては解除されないため、cAMP 以外の化合物により仲介されていると考えられた。そこで、非代謝性のグルコース誘导体や解糖系の基質になりにくい炭素源がこれらの両酵素誘導を抑制するかどうかを検討したところ、これらの化合物は抑制作用をもたなかった。このことから、解糖系の基質になりやすい炭素源の代謝物にその抑制作用があると考えられた。この *in vivo* の酵素誘導を抑制する代謝産物の同定のために、解糖系の突然変異株を用いた検討を行った。ホスホグルコースイソメラーゼ及びグルコース-6リン酸脱水素酵素を欠損する変異株ではグルコースによる抑制がみられなかった。このことはグルコース-6リン酸は抑制産物ではなく、さらに代謝の進んだ産物が抑制物であると推論できた。同様の検討をその他の突然変異株を用いて行った結果から、生体内の抑制産物はフルクトース-1,6ビスリン酸、ジヒドロキシアセトンリン酸、1,3-ジホスホグリセリン酸又はグリセルアルデヒド-3リン酸と結論できた。

以上のように枯草菌のイノシトール脱水素酵素とグルコン酸キナーゼの異化代謝物抑制には解糖系の産物が関与している。最近、大腸菌でも糖代謝の産物が異化代謝物抑制に関与しているという報告があり、私達の報告と共に興味を持たれる。

さらに、この異化代謝物抑制を分子レベルで解明するために、グルコン酸キナーゼの遺伝子を含むグルコン酸オペロンのクローニングと塩基配列の解析を行った。現在、グルコン酸オペロンのプロモーター領域の異化代謝物抑制に関与する部位を検討中である。

### 論文審査の結果の要旨

グルコースやその他の代謝され易い糖の異化代謝産物により大腸菌ラクトースオペロンの発現が阻害されるという現象 ( 異化代謝物抑制 ) は、遺伝子発現の調節機構解明のための恰好のモデルとして、1960年代から盛んに研究された。その結果、大腸菌では、カタボライト遺伝子活性化タンパク質 ( catabolite gene activator protein, CAP ) - cAMP 複合体が正の制御因子として、カタボライト感受性オペロン ( ラクトースオペロンやその他の誘導酵素オペロン ) の転写を促進すること、および異化代謝物抑制は cAMP レベルの低下を介して行われることが明らかとされた。しかし最近、大腸菌の異化代謝物抑制に CAP - cAMP のみでは説明できないいくつかの現象が見出されており、まして cAMP やアデニル酸シク

ラーゼを持たない枯草菌では異化代謝物抑制に別の機構が用いられていることが予測される。そこで申請者の研究グループでは、それぞれイノシトールとグルコン酸で誘導されるイノシトール脱水素酵素およびグルコン酸キナーゼ系を用いて、枯草菌の cAMP に依存しない異化代謝物抑制の機構の解明を志した。

本学位申請論文の研究では、申請者は、イノシトール脱水素酵素とグルコン酸キナーゼの誘導が共に、糖のエムデン・マイヤー・ホフ経路の異化代謝物により抑制されることを明らかにし、且つこの異化代謝物抑制は cAMP 以外の化合物により仲介されていることを示唆した。すなわち、この2種の酵素の誘導の抑制効果は、グルコースやその他のエムデン・マイヤー・ホフ経路を介して容易に代謝される糖にのみ顕著に認められ、ペントース回路により代謝される糖、代謝されないグルコース誘導体、および TCA 回路で代謝される有機酸やアミノ酸では観察されなかった。また、グルコース、フルクトース、およびグリセロールによる誘導の抑制は培地中に cAMP を添加しても解除されなかったため、この異化代謝物抑制は cAMP 以外の化合物により仲介されているとされた。更に申請者は、種々の酵素欠損を持つ計6種の突然変異細胞を用いて、グルコース、マンノース、フルクトースおよびグリセロールの誘導抑制効果を解析し、この抑制に関与する代謝物はエムデン・マイヤー・ホフ経路のフルクトース-1,6-ビスリン酸 (F-1,6-P<sub>2</sub>) と 1,3-ジホスホグリセリン酸 (1,3-P<sub>2</sub>GA) の間の中間体、すなわち、F-1,6-P<sub>2</sub>、1,3-P<sub>2</sub>GA、ジヒドロキシアセトンリン酸、およびグリセルアルデヒド3リン酸のうちいずれかであろうと推定した。1960年代から行われている大腸菌での異化代謝物抑制機構の研究においてさえ、cAMP レベルの低下をもたらす代謝物が未だ特定されていないことを考えると、申請者の以上の実験結果は特筆に価する。

学位申請論文と共に提出された3報の副論文に見られるように、本研究はその後、グルコン酸キナーゼの遺伝子を含むグルコン酸オペロンのクローニングと塩基配列およびそれに基づく遺伝子構成の決定、グルコン酸オペロンのプロモーター領域の異化代謝物抑制に関与する部位の検索へと発展し、国際的にも高い評価を受けている。

審査委員会において、申請者によりなされた口頭発表と論文内容について審議した結果、以上の内容を持つ本学位論文は学位授与に十分価すると、全員一致で判定した。

論文審査担当者	主査	教授	市山	新			
	副査	教授	藤瀬	裕	副査	教授	西村 顕治
	副査	教授	菅野	剛史	副査	講師	佐藤 篤彦