

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 平山力

本論文は、カイコにおけるアンモニア窒素の代謝機構について、栄養生理学的及び生化学的研究を行い、新たなアンモニア同化経路の存在を立証し、体内アンモニア源となる尿素の代謝特性が飼料由来の酵素に依存する点について解明したものである。

1. アンモニア窒素の窒素栄養源としての有効性

アンモニウム塩の飼料窒素源としての価値と有効性を体重、器官重量、及び生存率を指標に判定した結果、クエン酸アンモニウムと酢酸アンモニウムに成長促進効果が見られた。クエン酸アンモニウムの添加はグルタミン酸とほぼ同等の有効性を示し、体液のアミノ酸組成に非必須アミノ酸の顕著な増加が観察されたことから、アンモニア窒素から非必須アミノ酸への転換が示唆された。また、飼料に添加した $[^{15}\text{N}]$ 酢酸アンモニウムは、50%が体内に取り込まれ、その内の40%が絹糸タンパク質の合成に利用された。体液中に注射した $[^{15}\text{N}]$ 酢酸アンモニウムは、5齢中後期においては大豆タンパク質より効率的に利用されていた。

2. アンモニア同化経路

カイコの5齢幼虫におけるアンモニア同化経路を明らかにするため、数種器官の窒素代謝関連酵素の活性を調べた結果、グルタミン合成酵素 (GS)、グルタミン酸合成酵素 (GOGAT)、及びグルタミン酸脱水素酵素 (GDH) の活性が検出された。このことからカイコ体内におけるアンモニア代謝経路として、植物や微生物でのみ知られている GS/GOGAT 経路と哺乳動物で知られる GDH 経路の2通りが考えられた。そこで GS の特異的阻害剤を注射し GS/GOGAT 経路を人為的に遮断したところ、体液中のグルタミンの急激な減少とアンモニアの顕著な増加が見られた。このことから、脱アミノ反応等によりカイコ体内に生じるアンモニアは主に GS によってグルタミンに変換されており、GDH によるアンモニアからグルタミン酸への変換の代謝系は通常は働いておらず、カイコの主要なアンモニア同化経路は GS/GOGAT 経路であると考えられた。

3. グルタミン酸合成酵素の精製と性質

動物ではその存在が知られていなかった GOGAT をカイコから精製し、分子量、N

末端アミノ酸配列、至適 pH、基質特異性、基質親和性、阻害剤の影響等を調べた結果、植物や酵母等の真核生物の NADH 依存型 GOGAT ときわめて類似する性質を持っている。この酵素は後部絹糸腺における絹糸タンパク質の合成に必要なアミノ酸を供給する機能を担っていると推定された。

4. 飼料に依存した尿素の利用・代謝特性

カイコでは吐糸期以降の体液中にウレアーゼ活性が出現し、尿素をアンモニアに分解する。 ^{15}N 尿素及び ^{15}N 酢酸アンモニウムをカイコに注射し絹糸タンパク質に取り込まれる ^{15}N 量を測定したところ、桑葉で飼育したカイコでは ^{15}N 尿素も ^{15}N アンモニウム塩と同様に取り込まれていたのに対し、人工飼料で飼育したカイコでは ^{15}N 尿素は全く取り込まれていなかった。このことから、吐糸期以降のカイコの体液中には飼料に依存するウレアーゼ活性があることが判明した。これに対し、盛食期のカイコでは、ウレアーゼ活性が体液中にはなく消化管内容物中に認められたことから、消化管内腔に分泌された尿素の一部がウレアーゼによりアンモニアに分解され、消化管から吸収された後に窒素源として再利用されるものと推測された。

5. カイコのウレアーゼの起源と性質

桑葉ウレアーゼがカイコの尿素代謝に直接関与していることを実証した。桑葉ウレアーゼは、これまで精製された他の植物ウレアーゼとは異なり、至適 pH がカイコの消化管内のようなアルカリ側にあり、カイコ消化液中で安定であることが判明した。また、カイコの体液からウレアーゼを精製し桑葉のものと比較したところ諸性質が完全に一致し、桑葉ウレアーゼが消化管から体液中に取り込まれていることが明らかになった。

以上要するに、本研究は、カイコの終齢幼虫がアンモニア窒素を活発に絹糸タンパク質へ同化する能力があることを見出すと共に、動物においてこれまで知られていなかったアンモニアの同化経路の存在を立証し、さらに、桑葉中のウレアーゼを体内に取り込み尿素を代謝してアンモニアを発生させ利用していることを明らかにしたものである。本論文は、学術上極めて大きな知見を明らかにし、応用上も重要な基本的事実を明らかにしたものである。よって審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として十分に価値あるものと認めた。