

D-セリン代謝酵素の制御機構：特異性と曖昧さ。生理機能へのインパクト。

名古屋大学大学院生命農学研究科 伊藤 智和

#### 【略歴】

2004年3月 名古屋大学農学部応用生物科学科 卒業  
2008年4月 日本学術振興会特別研究員 (DC2)  
2009年3月 名古屋大学大学院生命農学研究科 博士課程修了 博士(農学)  
2009年4月 京都大学化学研究所博士研究員  
(日本学術振興会特別研究員(PD 資格変更))  
2010年4月 名古屋大学大学院生命農学研究科 助教 現在に至る

#### はじめに

D-アミノ酸は古くから、細菌細胞壁ペプチドグリカンやある種の抗生物質の構成成分として見いだされ、原核生物に限定された機能を有すると考えられてきた。しかしながら近年、ヒトをはじめとした真核生物中に様々な遊離 D-アミノ酸が存在することが見いだされ、これらが重要な生理作用を示すことが明らかとなりつつある。D-セリンは哺乳動物体内において生合成され、特に脳内に L-アミノ酸に比肩しうる量存在する。D-セリンは、興奮性グルタミン酸レセプターの一つである N-メチル-D-アスパラギン酸(NMDA)レセプターや  $\delta 2$  グルタミン酸レセプターに結合し、記憶や学習など、脳の高次機能発現に極めて重要な役割を果たしている。また、D-アスパラギン酸は、神経系や神経内分泌系に高濃度存在し、NMDAレセプターの活性化を介し長期増強を誘導することや、下垂体前葉ホルモンの産生・分泌を制御することが知られている。我々は、二種類の D-セリン代謝酵素、すなわち新規に出芽酵母より見出した D-セリン分解酵素 (D-セリンデヒドラターゼ) および、D-セリン合成酵素であるセリンラセマーゼの詳細な酵素学的解析を中心として、真核生物における D-アミノ酸バイオシステムの制御機構の理解を目指している。

#### ① D-セリンデヒドラターゼ(Dsd1p)を用いた DL-セリン同時分別定量法の開発と尿中 D-セリンレベルの動態解析

生体内で極めて厳密にコントロールされる D-セリンの制御異常と種々の疾病との関連性が注目されつつある。我々は、Dsd1p が、ピリドキサルリン酸 (PLP) および  $Zn^{2+}$  に依存する新奇な D-セリンデヒドラターゼ (D-セリンをピルビン酸とアンモニアに分解する) であることを見出し<sup>2)</sup>、その詳細な酵素学的解析を行うとともに<sup>3,6)</sup>、本酵素が示す厳密な D-セリンへの反応性を利用した、「D-セリン酵素定量法」を構築してきた<sup>1)</sup>。近年、特に D-セリンレベル (全セリンに対する D-セリン比) が神経疾患・腎疾患などの診断指標として有用である可能性が報告されている。本研究ではこれら疾病における D-セリンのバイオマーカーとしての展望を拓く目的で、簡便・迅速な「DL-セリン同時分別定量法」の構築に取り組んだ。*Geobacillus stearothermophilus* 由来アラニンラセマーゼ (AR) の活性中心に存在するチロシン残基に点変異を加え、セリンへの反応性を特異的に高めた。この変異型 AR と Dsd1p を共役させることで、試料中の DL-セリンの特異的な定量が可能となった。本法を用いて、健常者の尿中 D-セリン量、D-セリン比、D-セリン/クレアチニン比の日間および日内変動を測定した。尿中 D-セリン量や L-セリン量が顕著な日間変動を示す一方で、各個人の D-セリン

比、D-セリン/クレアチニン比がある一定の値に収束する傾向が得られた。

## ② セリンラセマーゼ(SR)の反応機構とD-アスパラギン酸生合成への影響

SRはPLPに依存してL-セリンとD-セリンのラセミ化反応と、両セリンエナンチオマーのデヒドレーション反応を触媒するユニークな二機能性酵素である。SRノックアウトマウスでは脳内D-セリンレベルが野生型マウスの10%程度にまで減少することから、本酵素が哺乳類における主要なD-セリン合成酵素であると考えられている。我々は、哺乳類SRと50%近い相同性を示す細胞性粘菌(DdSR)を用い、その諸性質を検証し、セリンのラセミ化反応、およびデヒドレーション反応の触媒機構を解析した<sup>4, 5)</sup>。その結果、DdSRのラセミ化機構がPLP結合リジン残基(K56)およびこれとPLPを挟んで対峙するセリン残基(S81)による二塩基機構によって進行すること、また、基質ヒドロキシル基の配向が、デヒドレーション反応の効率に重要なファクターであることを見出した。また、DdSRがセリンに加え、アスパラギン酸のラセミ化活性を示すことを見出し、また、マウス由来酵素(mSR)もアスパラギン酸のラセミ化活性を示すことを見出した。なお、mSRが示すアスパラギン酸のラセミ化活性は、上記セリンのラセミ化と同様の触媒機構で進行していた。D-アスパラギン酸は哺乳類体内で生合成され、様々な生理機能を示すことが知られているが、その生合成機構はよくわかっていない。そこで、SRが未知のまま残される哺乳類D-アスパラギン酸合成機構へ与えるインパクトについて検証することとした。現在、神経細胞分化のモデルとして用いられるPC12細胞やSRノックアウトマウスを用い、SRが細胞内D-アスパラギン酸レベルに与える影響を解析している。

## 謝辞

本研究の遂行に終始多大なご指導、ご協力を賜りました、吉村徹教授(名古屋大学大学院 生命農学研究科)に心より感謝申し上げます。また、本研究の一部は森寿教授(富山大学大学院 医学薬学研究部)との共同研究による成果であり、御礼申し上げます。

## 参考文献

1. Ito T, Takahashi K, Naka T, Hemmi H, Yoshimura T. *Anal Biochem.* (2007) 371, 167-72.
2. Ito T, Hemmi H, Kataoka K, Mukai Y, Yoshimura T. (2008) *Biochemical Journal* 409, 399-406.
3. Ito T, Koga K, Hemmi H, Yoshimura T (2012) *FEBS J.* 279, 612-624
4. Ito T, Murase H, Maekawa M, Hayashi S, Maki M, Hemmi H, Yoshimura T (2012) *Amino Acids*, 43, 1567-1576
5. Ito T, Maekawa M, S Hyashi, Goto M, Hemmi H, Yoshimura T (2013) *Amino Acids.* 44, 1073-84
6. Ito T, Matsuoka M, Koga K, Hemmi H, Yoshimura T. (2014) *Journal of Biochemistry.* 156, 173-180