

差はなかった。以上より、AsAによって骨形成と骨吸収(破骨)にそれほど差が生じていないことより、Pointillartらは、高濃度のAsA 供与によってブタの骨代謝や骨の特性を積極的に改善させようと結論づけることは困難であることを示した。しかし本実験で用いた飼料中には彼らが指摘しているように、AsAがコントロール群で飼料1 kg 中 116 mg(500 mg AsA群, 1,000 mg AsA群で、それぞれ 605 mg, 1,128 mg)も含まれ、コントロール群でもすでに高含量含まれているために3群で差が生じなかった可能性が十分考えられる。したがって、上記のように結論づけるには問題があるように思われる。

一方、西川ら¹¹⁾は、AsA 合成能を有するラットを用いてAsA とカルシウム剤の供与効果についての検討を行なった。すなわち、貝類や、魚骨、獣骨、卵殻から灰化したカルシウム剤を調製したものを5週齢の成長期のラットに28日間飼育供与し、AsA との相乗・相加効果を検討した。その結果、体重の増加量は全群でほとんど差はなかった。しかし、ラットの大腿骨重量および大腿骨中のカルシウム含量を検討したところ、図2(イ、ロ)に示すようにAsA のみの添加(AsA 500 mg/100 mg 飲料水)では両重量はほとんど上昇しなかったが、カルシウム剤の供与(2.5g/1 kg食餌)では両重量とも増加し、さらにこれにAsA を同時に供与することにより顕著に増加する事実を見出した。特に、卵殻、アワビ(Ear shell)、鶏骨でその傾向は強かった。骨粗鬆症との関係については、基本的には骨密度や骨破断強度などの測定が必要であるが、本実験においてカルシウム剤とAsAの両者を供与することにより大腿骨重量が増加し、しかも単位重量あたりのカルシウム含量が増加したことより、骨粗鬆症の予防にカルシウム剤とCの同時供与が有効である可能性が示唆された。

今後は、Cの作用について骨代謝に最も関係の深いと考えられる、ビタミンDやビタミンKとの関連のもとで総合的に研究が推進されることが期待される。

(甲子園大 栄養 西川善之)

文 献

- 1) 須田立雄: ビタミンD・カルシウム代謝と骨粗鬆症. In: 骨粗鬆症(健康の科学シリーズ3)学会センター関西(大阪)発行; 美濃 真, 糸川嘉則, 小林 正 編: pp.1-20 (1996)
- 2) 西川善之: ビタミン, **65** (8), 359-363 (1991)
- 3) Tsunenari, T., Fukase, M., Fujita, T.: *Calcif. Tissue Int.*, **48**, 18-27
- 4) Franceschi, R.T.: *Nutr. Rev.*, **50**, 65-70 (1992)
- 5) Franceschi, R.T., Iyer, B.S., Cui, Y.Q.: *J. Bone Miner. Res.*, **9**, 843-854 (1994)
- 6) Pointillart, A., Colin, C., Lacroix, H., Gueguen, L.: *Bone*, **17**, 357-362 (1995)
- 7) Weiser, H., Schlachter, M., Probst, H.P., Kormmann, A.W.: The relevance of ascorbic acid for bone metabolism. In: *Ascorbic Acid in Domestic Animals. Proc. 2nd Symp. Kartause Ittingen Switzerland, 9-12 October, 1990* (Wenk, C., Fenster, R., Volker, L., eds.) pp.73-95. ETH, Zurich, Switzerland (1992)
- 8) Tsuchiya, H., Bates, C.J.: *J. Nutr.*, **72**, 745-752 (1994)
- 9) Kipp, D.E., McElvain, M., Kimmel, D.V., Akhter, M.P., Robinson, R.G., Luckert, B.P.: *Bone*, **18**, 281-288 (1996)
- 10) Pointillart, A., Denis, I., Colin, C., Lacroix, H.: *J. Nutr.*, **127**, 1514-1518 (1997)
- 11) 西川善之, 朝野俊哉, 峯中美治, 一村美香: ビタミン, **11** (5,6) 講演要旨 (1-III-4)(1997)

酵母分岐鎖アミノ酸アミノ基転移酵素の生理機能

分岐鎖アミノ酸アミノ基転移酵素はL-ロイシンやL-バリンなどの分岐鎖アミノ酸と α -ケト酸とのアミノ基転移反応を触媒するビタミンB₆酵素である。鏡山らにより大腸菌の本酵素の立体構造が明らかにされ、反応機構の詳細が明らかになりつつある¹⁾。最近、酵母のミトコンドリア型及びサイトゾル型分岐鎖アミノ酸アミノ基転移酵素をコードする遺伝子が同定され、その興味深い生理機能が明らかにされた^{2), 3)}。

Benvenistyらは、新たにマウスc-mycガン遺伝子の標的遺伝子としてマウスECA39遺伝子を同定した⁴⁾。c-Mycガン遺伝子産物は細胞増殖とアポトーシスを誘導し、これまでに見いだされたc-Myc 標的遺伝子もその一方あるいは両方に関与することが知られている⁵⁾。今回、彼らはマウスのECA39遺伝子産物と他のタンパク質とのホモロジーを各種データベースを用いて検索し、酵母の二つの機能未知タンパク質BAT1(これは酵母ECA39タンパク質とも称される)並びにBAT2(これは酵母ECA40タンパク質とも称される)との間の高い相同性を見いだした²⁾。これらのタンパク質は大腸菌の分岐鎖アミノ酸アミノ基転移酵素¹⁾や*Bacillus subtilis*の機能未知タンパク質YwaA⁶⁾に対して一次構造上の類似性を示した。また、これらのタンパク質と相同なタンパク質はヒト、ラット及び植物の*Arabidopsis thaliana*にも存在する(図、文献3より引用)。これら相同タンパク質のすべてに分岐鎖アミノ酸アミノ基転移反応に必須と考

図. 酵母BATタンパク質と相同タンパク質との配列アライメント

```

↓ : * * : * * * * * : * * * * *
Bat1p -MLQRHSLKLGKFSIRTLATGAPLDASKLKITRNPNP--SKPRPNEELVFGQTFDTHMLT
Bat2p -----MTLAPLDASKVKITTOHA--SKPKPNSSELVFGKSFDTDHMLT
hEca39 -MDCSNG-SAECTGEGGSKEVVGTFKAKDLIVTPATILKEKPDNN-LVFGTFTDHMLT
mEca39 MKDCSNGCSAPFAGERGSEVAETFRAKDLIITPATVLKEKPDPS-LVFGATFTDHMLT
aEca39 -----EKYANVKWEELG---FALTPIDYMYV
YwaA -----MTKQTIrVELTSTKKP---KDPNQ-LSFGRVFTDHMFV
IlvE -----M

: * * : * * * * * : * * : * * * * : * * * * * : * * * * *
Bat1p IPWSAKEGWGTPHIKPYGNLSLDPSACVFHYAFELFEGLKAYRTPTQNTITMFRPDKNMAR
Bat2p AEWTAKEGWGTPKIPYQNLSDPSAVVFHYAFELFEGLKAYRTVDNKITMFRPDMNMKR
hEca39 VEWSEFGWEKPHIKPLQNLSLHPGSSALHYAVELFEGLKAFRGVDNKIRLFPQNLNMDR
mEca39 VEWSSASGWEKPHIKPFGNLPiHPAASVLHYAVELFEGLKAFRGVDNKIRLFRPDLNMDR
aEca39 AKCRQGESFTQGIvPYGDISIspcspILNYGQGLFEGLKAYRTEDDRIRIFRPDQNALR
YwaA MDYAADKGWYDPRiPYQPLSMDPTAMVYHYGQTVFEGLKAYVSEDDHVLLFRPEKNMER
IlvE TTKKADYiWFNGEMVRWEDAKVHVMSHALHYGTSVFEGIRCYDShKG-PVvFRHREHMQR

* * * * * : * * * * * : * * * * * : * * * * * : * * * * *
Bat1p MNKSAARICLPTFESEELIKLTGKLIQDQKHLVPOGNGYSlyIRPTMIGTskGLGVGTpS
Bat2p MNKSAQRICLPTFDPEELITLIGKLIQDQKCLVPEGKGYSLYIRPTLIGTTAGLGVSTPD
hEca39 MYRS AVRATL PVFDKEELLECIQQLVKLDQEWVpYSTASLYIRPAFIGTEPSLGvKkKPT
mEca39 MCRSAVRTTLPFDKEELLKCIQLQLIDQEWVpYSTASLYIRPTFIGTEPSLGvKkKPS
aEca39 MQTGAERLCMTPTLEQFVEAVKQTVLANKKWVP-----PP
YwaA LNQSNDRLCiPQIDEEQVLEGLKQLVAIDKDWIPNAEGTSLYIRPFIATEPFLGVAASH
IlvE LHDSAKIYRFPVS-----QSIDELMEACRDVIRKNNLTsayIRPLIFVGDVGMGNVPPA

* * * * * : * * * * * : * * * * * : * * * * * : * * * * *
Bat1p --EALLYVITSPVGPYYKTG-FKAVRLEATDYATRAWPGGvG-DKRLGANYAPCilPQLQ
Bat2p --RALLYVICCPVGPYYKTG-FKAVRLEATDYATRAWPGGCG-DKRLGANYAPCVLPQLQ
hEca39 --KALLFVLLSPVGPYFSSGTFNPVSLWANPKYVRAWKGGTG-DCRMGGNYGSSlFAQCE
mEca39 --KALLFVILSPVGPYFSSGSFTPVSLWANPKYIRAWKGGTG-DCRMGGNYGASLLAQCE
aEca39 --VKELCI-----
YwaA --TYKLLIILSPVGSYYKEG-ikPVKIAVESEFVRAVKGGTG-NAKTAGNYASSLKAQV
IlvE GYSTDVIIAAPPWGAYLGAEALEQGIAMVSSWNRAAPNTIPTAAKAGGNyLSSLLVgSE

* * * * * : * * * * * : * * * * * : * * * * * : * * * * *
Bat1p AAKRGYQQLWLFgPEKN-ITEVGTMNVFFVFLNKVTGKkELVtAPLDGTILEGvTRDSV
Bat2p AASRGYQQLWLFgPNNN-ITEVGTMNAFFVFKDskTGKkELVtAPLDGTILEGvTRDSI
hEca39 DVDNGCQQLWLYGRDHQ-ITEVGTMNLFlyWINE-DGEEELATPPLDGIILPGvTRRCI
mEca39 AVENGCCQQLWLYGKDNQ-ITEVGTMNLFlyWINE-DGEEELATPPLDGIILPGvTRQSI
aEca39 -----
YwaA AEEKGFsqVLWLDGIEKkYIEEvgSMNIFFKING-----EIVTPMLNGSILEGITRNSV
IlvE ARRHGyQEGIALD--VNGYISEGAGENLFEVKDG-----VLFTPFPTSSALPGITRDAI

* * * * * : * * * * * : * * * * * : * * * * * : * * * * *
Bat1p LTLARDKLDPOEWDINERYyTITEVATRakQGEllEAFgSGTAAVvSpIkeIGWNNEDIH
Bat2p LNLAKERLEPSEWTISERYFTIGEVTERskNGELLEAFgSGTAAIVSpIkeIGWKGQIN
hEca39 LDLAHQWG---EFKVSERYLTMDLTTALEGNrvEMFSSGTACVVCvSDILYKGETIH
mEca39 LELAQQWG---EFKVCERHLTMDLATALEGnrVKEMFGSGTACVVCvSDILYKQMLH
aEca39 -----
YwaA IALLKHwg----LQVserKIAIDEVIQAHKDGILeeAFGTGTAAVISpVgELIWQDETLS
IlvE IKLAKELG----IEVREQVLS-----RESLYLADEVFMMSGTAAEITPVRSVDG-----

: * * : * * * * * : * * * * * : * * * * * : * * * * *
Bat1p VPLLPGEQCGALTKQVAQWIADIQGRVNYG-NWSKTVADLN---
Bat2p IPLLPGEQTGPLAKEVAQWINGIQYGETEHG-NWSRVVTDLN---
hEca39 IPTMENG--PKLASRILSKLTDIQGREES--DWTIVLS-----
mEca39 IPTMENG--PSLQVESWES-----
aEca39 -----
YwaA INNGETG---EIAKKLYDTITGIQKGAVADEFgWtTEVAALTESK
IlvE IQVGEGR-CGPVTKRIQQAFFGLFTGETEDKwGLDQVnQ-----
    
```

Bat1p, 酵母分岐鎖アミノ酸アミノ基転移酵素(ミトコンドリア型); Bat2p, 酵母分岐鎖アミノ酸アミノ基転移酵素(サイトゾル型); hEca39, ヒトEca39タンパク質; mEca39, マウスEca39タンパク質; aEca39, アラビトプシスEca39タンパク質; YwaA, 枯草菌の機能未知タンパク質; IlvE, 大腸菌分岐鎖アミノ酸アミノ基転移酵素のアミノ酸配列を示す。アスタリクスは上から6つの配列のうち少なくとも4つの配列で同じアミノ酸となっているアミノ酸残基を示す。コロンは機能上類似しているアミノ酸となっているアミノ酸残基を示す。ミトコンドリアへの移行に必要なプレ配列の推定切断点は矢印で示す。大腸菌の分岐鎖アミノ酸アミノ基転移酵素の活性発現に必須のリジン残基及びそれに相当する相同タンパク質のリジン残基は輪郭を付けて示す。

えられるリジン残基が保存されていた(図)。次いで、Benvenistyらは酵母*BAT1*、*BAT2*遺伝子の機能を調べた。ノーザンハイブリダイゼーション法を用いて酵母細胞内での転写レベルを調べ、*BAT1*遺伝子は対数増殖期に、*BAT2*遺伝子は定常期に強く発現することを明らかにした。さらに、各遺伝子の破壊株を作製しその特徴を調べた。*BAT1*遺伝子破壊株と*BAT2*遺伝子破壊株の分岐鎖アミノ酸アミノ基転移酵素活性を調べたところ、前者においてはミトコンドリア内の本酵素活性が、後者ではサイトゾルにおける本活性が著しく低下していることを見いだした。以上の結果、*BAT1*遺伝子はミトコンドリア型の分岐鎖アミノ酸アミノ基転移酵素を、*BAT2*遺伝子はサイトゾル型の本酵素をコードすることが判明した。加えて、*BAT1*遺伝子破壊株、すなわちミトコンドリア型分岐鎖アミノ酸アミノ基転移酵素遺伝子破壊株の細胞分裂に注目すべき変化が認められた。*BAT1*遺伝子破壊株の細胞増殖速度は野生株のそれよりも速く、さらに詳細な解析により、本破壊株のG1期が野生株のそれに比べて短く、細胞も格段に小さいことが判明した⁷⁾。この現象は*BAT2*遺伝子破壊株、すなわちサイトゾル型分岐鎖アミノ酸アミノ基転移酵素遺伝子の破壊株には認められなかった²⁾。すなわち、二つの分岐鎖アミノ酸アミノ基転移酵素のうちミトコンドリア型酵素が細胞周期のG1期からS期への移行の制御に関わっていることが示された⁷⁾。

一方、LillらはBenvenistyとは異なる立場で酵母の分岐鎖アミノ酸アミノ基転移酵素遺伝子(*BAT1*、*BAT2*)を同定し、本酵素の新規機能を見いだした³⁾。彼らは、酵母のミトコンドリア内膜ABCトランスポーターをコードする*atm1*遺伝子の破壊株を用い、温度感受性を相補する遺伝子として*BAT1*遺伝子を同定した。さらに、*BAT1*と*BAT2*の両遺伝子を破壊した株は分岐鎖アミノ酸の要求性を示すようになること、グルコースを炭素源とする培地ではこれらのアミノ酸を添加してもほとんど生育できないことを見いだしている。彼らは、以上の結果から酵母における分岐鎖アミノ酸アミノ基転移酵素は分岐鎖アミノ酸の代謝とは別にさらに特殊な生理機能を有すると推察している。この機能は

ラットで示された分岐鎖アミノ酸のトランスポーターとしての機能ではないことも示唆されている。

酵母、さらには真核生物の分岐鎖アミノ酸アミノ基転移酵素の生理機能はラットで示されたトランスポーターとしての多面的機能だけでなく、さらに多岐にわたることが推察される。ほ乳動物における分岐鎖アミノ酸アミノ基転移酵素活性は成体組織では脳組織を除いて認められないが、幼体組織やガン組織などの細胞分裂の盛んな組織では顕著な活性が見いだされている^{8),9)}。また、酵母の分岐鎖アミノ酸アミノ基転移酵素、*BAT1*(ミトコンドリア型)と*BAT2*(サイトゾル型)の一次構造上の相同性は顕著に高い(同一性:77%、類似性:85%)にもかかわらず、*BAT1*酵素のみが細胞周期の調節に関与していることは酵母の細胞分裂機構を考える上で興味深い。酵母をはじめ、真核生物の分岐鎖アミノ酸アミノ基転移酵素のタンパク質レベルでの高度解析が望まれる。また、細胞周期に関連して存在することが予想される真核生物の分岐鎖アミノ酸アミノ基転移酵素と有意な相互作用を示す生体分子(おそらくタンパク質)もこれまで見いだされていない。今後、これらの発見が期待される。

(高知大 遺伝子実 芦内 誠, 同大 農 八木年晴)

文 献

- 1) Okada, K., Hirotsu, K., Sato, M., Hayashi, H., Kagamiyama, H.: *J. Biochem.*, **121**, 637-641 (1997)
- 2) Eden, A., Simchen, G., Benvenisty, N.: *J. Biol. Chem.*, **271**, 20242-20245 (1996)
- 3) Kispal, G., Steiner, H., Court, D.A., Rolinski, B., Lill, R.: *J. Biol. Chem.*, **271**, 24458-24464 (1996)
- 4) Benvenisty, N., Leder, A., Kuo, A., Leder, P.: *Genes Dev.*, **6**, 2513-2523 (1992)
- 5) Amati, B., Land, H.: *Curr. Opin. Gen. Dev.*, **4**, 102-108 (1994)
- 6) Kunst, F. *et al.*: *Nature*, **390**, 249-256 (1997)
- 7) Schuldiner, O., Eden, A., Ben-Yosef, T., Yanuka, O., Simchen, G., Benvenisty, N.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93**, 7143-7148 (1996)
- 8) Roth, S.L., Delotto, R., Kaji, A.: *Cancer Res.*, **37**, 1147-1153 (1977)
- 9) Kadowaki, H., Knox, W.E.: *Biochem. J.*, **202**, 777-783 (1982)