

学位授与記録簿（博士）

バイオサイエンス研究科

氏名	武田 瑛美
学位の種類	博士（バイオサイエンス）
授与年月日	2017年（平成29年）3月18日
学位授与の要件	本学学位規程第18条第1項該当者（学位規則第4条第1項）
学位論文の題名	超好熱性古細菌 <i>Aeropyrum pernix</i> K1 由来 <i>O</i> -phospho-L-serine sulfhydrylase の1次基質認識機構の解明
審査委員 主査	教授 河合 靖
副査	教授 白井 剛
副査	教授 西 義介

論文内容要旨

ヒトに対する病原菌は結核菌 *Mycobacterium tuberculosis* や赤痢アメーバ *Entamoeba histolytica* などおよそ 50 種類存在する。*M. tuberculosis* や *E. histolytica* に対する感染症治療薬は存在するものの、薬剤耐性菌の出現している現状があり、新たな作用機構の感染症治療薬の開発が求められている。その新たな作用機構薬のターゲットとして、システイン生合成経路に着目した。生物は生きるために L-システインを必要とするが、ヒトと微生物はシステインの生合成経路が異なっていることが知られている。微生物のシステイン合成酵素の反応において、L-システインの合成には、アミノ基転移に関わる1次基質と硫黄源の2次基質が必要である。1次基質は生物種によって異なり、*O*-acetyl-L-serine (OAS) または *O*-phospho-L-serine (OPS) を使用する。1次基質の区別で酵素名が分類されており、1次基質に OAS を用いる酵素が *O*-acetyl-L-serine sulfhydrylase (OASS)、1次基質に OPS を用いる酵素が *O*-phospho-L-serine sulfhydrylase (OPSS) として名付けられている。例外として超好熱性古細菌 *Aeropyrum pernix* とトリコモナス原虫 *Trichomonas vaginalis* のシステイン合成酵素は OAS と OPS 両方を1次基質として用いることが知られている。1次基質の認識機構についてはこれまで、OPS の認識には活性部位の Arg や Lys が関わることが知られて

いるが、OAS についてはわかっていない。1 次基質アナログを抗病原菌剤として考えたとき、その病原菌の用いる 1 次基質に対応させるため、OAS と OPS それぞれの認識残基を知る必要がある。

本研究では、OAS と OPS 両方を 1 次基質として使用できる *Aeropyrum pernix* 由来システイン合成酵素(ApOPSS)を用いて、1 次基質の認識に関わると思われる残基の役割推定と、1 次基質の認識の区別に関わる残基の推定を試みた。その結果、225 番目の残基が Phe または Tyr であることと、297 番目の残基が Arg または Gln であることが、1 次基質の認識に関わっていると考えられた。そして、OAS の認識には F225 と Q297、OPS の認識には Y225 と R297 が強く関連していると結論した。この結果は、これまでに報告されている微生物由来のシステイン合成酵素の 1 次基質の特異性とよく一致した。

論文審査結果要旨

本論文では超好熱性古細菌 *Aeropyrum pernix* K1 由来のシステイン合成酵素である *O*-phospho-L-serine sulfhydrylase の 1 次基質認識機構の解明を目的とし、同酵素の反応中間体や酵素-生成物複合体、変異体などの結晶構造解析を行った。そして活性部位に存在している F225 と R297 が一次基質の認識とその配向を決定する重要なアミノ酸であることを明らかにした。さらに変異体の動力学パラメータの解析を行い、一次基質である *O*-phospho-L-serine には Y225 と R297 が、*O*-acetyl-L-serine には F225 と Q297 が重要な残基であることを明らかにした。これはこれらのアミノ酸の基質認識における役割を初めて明らかにしたもので、システイン生合成酵素のメカニズムの解明に大きく寄与するものである。

論文審査における発表も論理的でわかりやすく、口頭試問における応答も的確であったと判断した。さらに本研究内容は英語論文として筆頭著者で報告されている。よって審査員は全員一致で本論文が長浜バイオ大学の博士（バイオサイエンス）の学位論文に相応しいものであると判断した。