

学位論文審査結果の要旨

学位申請者 氏 名	Md. Harun-Ur-Rashid (モハメド ハルーン ウル ラシード)
審査委員	主査 琉球大学 教授 モハメド アムザド ホサイン
	副査 琉球大学 准教授 福田 雅一
	副査 佐賀大学 教授 穴井 豊昭
	副査 琉球大学 教授 屋 宏典
	副査 佐賀大学 教授 渡邊 啓一
審査協力者	
題 目	<p style="text-align: center;">Molecular Characterization of Cysteine Synthase in <i>Mimosa pudica</i> and <i>Leucaena leucocephala</i> (ギンネム・オジギソウの持つシステイン合成酵素の分子レベルでの解析)</p>
<p>システイン (Cys) 及び非タンパク質性アミノ酸ミモシン生合成過程において、O-アセチル-L-セリン (OAS) は共通の基質である。O-アセチルセリン (チオール) リアーゼ (OASTL, システイン合成酵素) 存在下において、OAS が硫化物イオンと反応すれば Cys、3-hydroxy-4-pyridone (3H4P) と反応すればミモシンを産生する。本研究において、オジギソウ (<i>Mimosa pudica</i>) より Cys の合成のみを行う OASTL、ギンネム (<i>Leucaena leucocephala</i>) より Cys とミモシンの合成の両方を行う OASTL がクローニングされた。</p> <p>オジギソウより初めてクローニングされた、細胞質タイプ OASTL の cDNA は、1,410 塩基対からなり、大腸菌で産生した組換え酵素は、ミモシンは合成せず、Cys のみを合成した。この酵素は、Cys 合成に特異的であり、オジギソウにおける細胞内環境の酸化還元ネットワークや硫黄源の貯蔵において、センサーとしての役割を果たしていると考えられる。</p> <p>今回クローニングされた、ギンネム由来の細胞質タイプ OASTL の cDNA は、1,275 塩基対からなり、その組換え酵素は Cys とミモシンの両方を合成する活性を持っていた。Cys とミモシン合成両方について、基質 OAS および Na₂S または 3H4P を</p>	

用いて行ったところ、Cys 合成がより起きやすい反応であることを示唆する結果が得られた。分子モデリングおよびシミュレーションに基づき、ミモシン合成経路も提案された。

OASTL のアイソフォームは、細胞質、プラスチド、ミトコンドリアの 3 つの場所に存在する。本研究において、ギンネムより葉緑体型 OASTL (Ch-OASTL) が初めて単離され、大腸菌 BL-21 によって発現された。この (Ch-OASTL) は、1,543 塩基対よりなり、精製された組換えタンパクはシステイン合成活性を発現したが、ミモシン合成活性は示さなかった。

これらの結果より明らかになった、オジギソウおよびギンネムの Cys とミモシンの生合成における OASTL の特異な性質は、植物における硫黄代謝ネットワークの新たな概念を提示するものと結論される。特にミモシン合成酵素遺伝子の発見は、荒地にも生え、タンパク質やミネラルを豊富に含むにも拘わらず、今まで毒性を持つミモシンを多く含むことから、その資源としての利用が制限されてきたギンネムに対し、遺伝子ノックダウン法等を用いることによりミモシン合成活性を抑えた低ミモシン含有ギンネムを開発できる可能性を示した。以上のことから、本論文は学位論文として十分な価値があるものと判定した。