

学位論文審査結果の要旨

学位申請者 氏名	大貝 茂希
審査委員	主査 琉球大学・教授 屋 宏典
	副査 琉球大学・准教授 福田 雅一
	副査 佐賀大学・教授 渡邊 啓一
	副査 鹿児島・教授 石橋 松二郎
	副査 琉球大学・教授 小西 照子
審査協力者	
題目	非タンパク性アミノ酸ミモシンの合成・分解系酵素に関する研究 (Studies on synthesis and degrading enzymes of non-protein amino acid mimosine)
<p>ミモシンはマメ科ネムノキ亜科に属するギンネム (<i>Leucaena leucocephala</i>) 及びオジギソウ (<i>Mimosa pudica</i>) にのみ存在する非タンパク性アミノ酸である。ミモシンの合成・分解酵素は PLP を補酵素とする PLP 依存酵素ファミリーのメンバーであるが、その反応機構や分子進化に関する知見は極めて限られている。また、ミモシンは、二価金属イオンのキレート作用を持ち、またピリドキサル-5'-リン酸 (PLP) と安定した複合体を形成し、様々な生物学的プロセスを阻害するため、有望な資源植物であるギンネムの有効利用の妨げとなっている。本研究においては、①ギンネム及びオジギソウのミモシンの合成・分解系酵素の特性を分子レベルで解析し、酵素反応機構と進化メカニズムを解明すること、②ミモシン分解能の高い細菌由来ミモシン分解酵素 (ミモシナーゼ) の特性を解析し、生物学的ミモシン除去法の開発に寄与する基礎知見を得ることを目的とした。</p> <p>ミモシンを分解するミモシナーゼはシスタチオニンβ-リアーゼ (CBL) から進化したことが示唆されている。本研究ではオジギソウのミモシナーゼとCBLのクローニングを行い、組み換え酵素を調製してその特性を解析するとともにホモロジーモデリングや分子シミュレーションにより、CBLからミモシナーゼへの分子進化には、基質結合ポケットを構成するループ構造の柔軟性とポケットサイズの変化が関与している可能性を初めて明</p>	

らかにした。

一方、ギンネムのミモシン合成には細胞質に局在するシステイン合成酵素のアイソザイムが関与していることがこれまでの研究において報告されている。ギンネムには葉緑体移行シグナルをもつシステイン合成酵素アイソザイムも存在するが、本酵素のミモシン合成能の有無については判明していない。本研究においては、葉緑体移行シグナルをもつシステイン合成酵素のミモシン代謝への関与の有無を明らかにすることを目的として、本アイソザイムのクローニングを行い、酵素学的特性と酵素タンパク質の高次構造の比較解析を行った。その結果、本酵素はミモシン合成能がなく、ミモシン代謝には関与していないこと、ミモシン合成能をもつギンネムの細胞質型のアイソザイムはシステイン合成に必要な活性残基の一部が置換されることにより進化した可能性が示された。

また、高いミモシン分解能をもつ細菌 *Arthrobacter* sp. Ryudai-S1 をギンネム生育土壌から分離するとともに、高活性ミモシナーゼのクローニングに成功した。分子シミュレーションと部位特異的変異導入により、本ミモシナーゼの高い触媒活性と基質特異性には活性ポケットのサイズ及び基質と相互作用するアミノ酸残基の特性が大きく寄与していることを明らかにした。

これらの成果は、動植物・細菌を問わず多様な反応性を持つPLP依存酵素の反応機構や進化の理解のみならず、有望な資源植物であるギンネムの有効活用にも大きく貢献する基礎知見と判断された。よって、本論文は博士（農学）の学位論文として十分に価値あるものと判断した。