

氏名	カク 郭	ミ 美	スン 善
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)		
学位記番号	農 博 第 1525 号		
学位授与の日付	平成 17 年 7 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
研究科・専攻	農学研究科応用生命科学専攻		
学位論文題目	Studies of protein systems depending on cysteine desulfurase and selenocysteine lyase (システインデスルフラゼおよびセレノシステインリアーゼに依存するタンパク質システムに関する研究)		
論文調査委員	(主 査) 教授 江崎 信 芳 教授 清水 昌 教授 坂田 完 三		

論 文 内 容 の 要 旨

硫黄とセレンは、タンパク質中のシステイン、メチオニン、セレノシステイン、セレノメチオニンなどのアミノ酸残基中に存在するほか、鉄硫黄クラスター、チアミン、tRNAの修飾塩基などの構成元素でもあり、これらの含硫、含セレン化合物は生物にとって極めて重要な役割を果たしている。これらの化合物の生合成機構を明らかにすることは、学術的にも産業的にも重要と考えられるが、詳細は明らかではない。システインから硫黄を脱離する反応を触媒するシステインデスルフラゼは、鉄硫黄クラスター、チアミン、tRNAなどへの硫黄供給系として機能し、一方、セレノシステインに特異的に作用するセレノシステインリアーゼは、セレントンパク質やtRNAへのセレン供給系として作用すると考えられている。しかし、これらの反応に関与する硫黄およびセレンの受容体、ならびにこれらと相互作用するタンパク質の役割や反応機構は不明である。本研究は、システインデスルフラゼおよびセレノシステインリアーゼと相互作用するタンパク質システムの酵素科学的諸性質ならびに反応機構について明らかにしたものであり、その内容は次のように要約される。

1. 5-メチルアミノメチル-2-チオウリジン (Mnm) 生合成関連遺伝子 *mnmA* を *Escherichia coli* よりクローニングし、その遺伝子産物 MnmA が、ATP、システインデスルフラゼ、L-システイン、ジチオスレイトールの存在下で、tRNA^{Lys} の修飾塩基である 2-チオウリジンを生成する反応を触媒することを明らかにした。MnmA の Asp17, Cys102, Cys199 は本酵素の活性発現に必須であり、L-システインから脱離した硫黄原子は、システインデスルフラゼの Cys328 のチオール基とペルスルフィドを形成した後、MnmA の Cys102 のチオール基に転移されることを見いだした。MnmA は tRNA^{Lys} に作用してウリジンの 2 位のアデニル化を触媒し、Cys199 の作用によって Cys102 に形成されたペルスルフィドより硫化物イオンが遊離し、アデニル基と置換することで反応が進行すると推論した。

2. 好熱菌 *Thermoanaerobacter tengcongensis* MT4 のゲノムには、*csdB*, *iscS1*, *iscS2* の 3 つのシステインデスルフラゼ遺伝子が存在し、それぞれ *iscU*, *thiI*, *mnmA* と遺伝子クラスターを形成することを見いだした。CsdB, IscS1 ならびに IscS2 は、それぞれ IscU, ThiI ならびに MnmA によってのみ活性化され、相互作用して硫黄転移に直接関わることから、3 つのシステインデスルフラゼは、遺伝子上でクラスターを形成する相手をそれぞれ厳密に区別しながら機能を特化させていることを明らかにした。

3. マウスセレノシステインリアーゼと相互作用するタンパク質を酵母 Two-hybrid 法により探索し、マウス肝臓の major urinary protein I (MUP-I) を見いだした。*E. coli* を宿主として発現させ、精製した MUP-I 標品を用いて、セレノシステインリアーゼとの相互作用を詳細に解析した結果、セレノシステインリアーゼは MUP-I とリガンドとの結合を強く抑制することを明らかにした。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

硫黄とその同族元素であるセレンは、タンパク質中のアミノ酸残基、あるいは鉄硫黄クラスター、チアミン、ピオチン、

tRNAの修飾塩基などの構成成分となり、生物学的にそれぞれ重要な機能を担っている。抗酸化機能をもつタンパク質や低分子化合物の多くが、含有する硫黄やセレンの特性に基づいてこれらの機能を発揮している事実を考慮すると、これらの含硫、含セレン化合物の生合成機構を解明することは、学術的にも産業的にも重要といえる。本研究は、システインデスルフララーゼとセレノシステインリアーゼを中心に据えて、これらのタンパク質と相互作用するタンパク質システムに焦点を絞り、それらのユニークな機能を解析したものであり、評価すべき点は次の通りである。

1. tRNA^{Lys}のアンチコドン1番目の塩基に存在する2-チオウリジンは、アミノアシル化と翻訳の両方にとって重要であり、本修飾反応を触媒するシステインデスルフララーゼとMnmAからなるタンパク質システムの詳細な作用機序を明らかにしている。MnmAの触媒機能に必須なアミノ酸残基を特定するとともに、システインデスルフララーゼからの硫黄転移機構を解明している。これは、tRNA修飾における硫黄転移反応の実態を初めて明らかにしたものであり、酵素科学的に重要な研究成果といえる。

2. 好熱菌 *T. tengcongensis* MT4のゲノムに、3種の異なるシステインデスルフララーゼ遺伝子を含むクラスターが存在することを見いだしている。*E. coli*では1種類のシステインデスルフララーゼが、IscU, ThiI, MnmAなど、複数のタンパク質と相互作用することを明らかにする一方、*T. tengcongensis* MT4では、3つのシステインデスルフララーゼが、クラスター内に存在する個別のタンパク質とそれぞれ特異的に相互作用することを見いだしている。これは、システインデスルフララーゼと相互作用するタンパク質システムの分子進化を理解する上で重要な知見といえる。

3. フェロモンなどの生体機能分子と強く結合するMUP-Iがセレノシステインリアーゼと強く相互作用し、そのリガンド結合が強く抑制されることを初めて見いだしている。これはMUP-Iの生理作用を理解する上で重要な発見といえる。

以上のように本論文は、システインデスルフララーゼとセレノシステインリアーゼの2種の酵素に的を絞り、これらと相互作用する複雑なタンパク質システムの実態を明らかにしたものであり、生化学、酵素科学、応用微生物学に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成17年6月16日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。