

Title	A few natural amino-acid substitutions critically determine the substrate specificity of nucleoside metabolizing enzymes
Author(s)	友池, 史明
Citation	大阪大学, 2013, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/60041
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

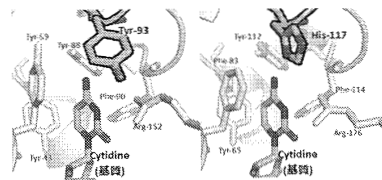
<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	とも いけ ふみ あき 友 池 史 明
博士の専攻分野の名称	博 士 (理学)
学位記番号	第 26259 号
学位授与年月日	平成25年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 生命機能研究科生命機能専攻
学位論文名	A few natural amino-acid substitutions critically determine the substrate specificity of nucleoside metabolizing enzymes (少数のアミノ酸残基の置換によって決定されるヌクレオシド代謝酵素の基質特異性)
論文審査委員	(主査) 教授 倉光 成紀 (副査) 教授 谷澤 克行 教授 河村 悟 教授 中川 敦史

論文内容の要旨

一般に酵素は高い基質特異性を有しており、この基質特異性によって生体内での代謝を高度に維持している。遺伝子操作技術が発達した今日では、酵素のアミノ酸配列を自由に変えることが可能であるが、いまだに酵素の活性を損なわずに基質特異性のみを改変することは難しい。高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 由来の uridine cytidine kinase (UCK) の活性を調べた。その結果、既知の UCK は uridine と cytidine の両方に活性を示すのに対し、*T. thermophilus* HB8 由来の酵素は uridine には活性を示さず、cytidine に対してのみ活性を示した (図 1)。そこで、原核生物由来の UCK としては初の報告となる本好熱菌由来の UCK の結晶構造を決定した。その基質結合部位を、uridine にも活性のあるヒト由来の UCK と比較したところ、cytidine の 4 位のアミノ基近くに存在するアミノ酸残基が、ヒト由来の酵素ではヒスチジンだったのに対し、*T. thermophilus* HB8 由来のものではチロシンとなっていた。そこで、このチロシンに注目して変異体解析を行ったところ、このアミノ酸残基がヒスチジンの時のみ、*T. thermophilus* HB8 由来の UCK は uridine に対して十分強い活性を示した。また、ヒト由来の UCK について、今回注目した位置に存在するヒスチジン残基をチロシンに置換した変異体では uridine に対して活性を示さなかった。以上の結果から、UCK の uridine に対する活性は、単一のアミノ酸残基によって決定されることが明らかになった。同様に、*T. thermophilus* HB8 のプリンヌクレオシド代謝酵素について、活性を調べたところ、プリンヌクレオシドを分解する、二種の purine nucleoside phosphorylase (PNP) の基質特異性も既知の PNP と異なることが明らかになった。二種の PNP における変異体解析により、この基質特異性も一つか二つのアミノ酸残基によって変換されることが示さ



生物種	<i>T. thermophilus</i> Tyr93	Human His(117)
活性		
cytidine	○	○
uridine	×	○

図 1 ヌクレオシド結合部位と活性の比較

れた。本研究で明らかになった基質特異性を決定するアミノ酸残基に注目して、報告されている UCK および PNP の配列を比較したところ、既知のホモログと異なる基質特異性を持つ酵素を有する生物種が多く存在することが示唆された。このように自然界では進化の過程で、わずかなアミノ酸残基に変異を加えるだけで基質特異性を変換し、生存に有利な代謝を獲得していることが示唆された (図 2)。

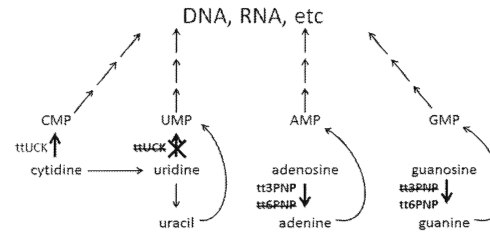


図 2 本研究により修正された *T. thermophilus* HB8 のヌクレオシド代謝経路
本研究により修正された箇所を太字で示した。

論文審査の結果の要旨

ウリジン・シチジンキナーゼ (UCK) は生物界において広く保存された酵素であり、一般にウリジンとシチジンの両方をリン酸化する活性を持つことが知られている。申請者は、高度好熱菌由来の UCK が既知のものとは異なり、ウリジンに対して活性を示さず、シチジンに対してのみ活性をもつことを発見した。さらに立体構造解析と変異体解析を行い、この新規の基質特異性が単一のアミノ酸残基によって決定されること、またその基質特異性の発現機構が本酵素ファミリーに共通していることを明らかにした。さらに、UCK でリン酸化されなかったウリジンは、別の代謝経路でリン酸化されることを示すと同時に、アデノシンとグアノシンのリン酸化代謝経路に存在する二種類のプリンヌクレオシド・ホスホリラーゼも、その基質特異性が単一または二つのアミノ酸残基によって決定されていることを明らかにした。以上の結果は、生物進化の過程でわずかなアミノ酸残基に変異が加わるだけで酵素の基質特異性が変換され、生存に有利な代謝経路を獲得してきた可能性を示す重要な成果であると判断される。よって、本論文は博士 (理学) の学位に値すると認める。