

学位論文審査の結果の要旨

氏名	東海 彰太
審査委員	主査 有馬 二郎 (印) 副査 小崎 紳一 (印) 副査 地阪 光生 (印) 副査 藪田 行哲 (印) 副査 岩崎 崇 (印)
題目	エリンギ由来セリンアミノペプチダーゼ“Eryngase”の構造—機能解析
<p style="text-align: center;">審査結果の要旨 (2,000字以内)</p> <p>東海彰太氏から提出された表題の学位論文について、平成30年7月25日に実施した口頭発表も踏まえて、5名の審査委員で審査を行った。</p> <p>ファミリーS9プロリルオリゴペプチダーゼ(S9 POP)は自然界に広く分布しており、ヒトでは、記憶プロセスの調節に働く神経ペプチドの分解に関与し、アルツハイマー病の疾病に大きく関わると共に、ある種のTrypanosoma属が持つS9 POPでは、トリパノソーマ病を引き起こす病原因子の一つであると考えられている。このようにS9 POPの薬理的な重要性から、その基質認識のメカニズムは興味深い研究対象であり、ドラッグデザインにおいて、S9 POPの基質認識機構の解明が期待されている。しかし、S9 POPの基質認識機構は複雑で、完全な解明には至っていない。S9 POPは特徴的な付属構造であるβ-プロペラドメインと、実際の酵素の化学反応の場を提供する触媒ドメインの二つのドメインから構成されており、この複雑な構造が、基質認識機構が未解明である原因として挙げられる。このような背景の下、東海彰太氏はエリンギ由来のS9 POP“Eryngase”を取り上げ、そのβ-プロペラドメインの基質認識への役割に焦点を当てた研究を行い、以下のような優れた成果を挙げた。</p> <p>1. 非触媒β-プロペラドメインの酸化によるEryngaseの基質特異性への影響 — 様々な生物由来のS9 POPは、化学的処理によってそれらの基質特異性の変化が頻繁に観察されている。本研究対象であるEryngaseもまた、過酸化水素処理により基質特異性が大きく変化した。本酵素のトリプシン消化ペプチド断片のMALDI-TOF MS解析により、β-プロペラドメインの表面に位置するMet203の側鎖構造がメチオニンスルフォキシドに酸化されることで、特異性変化が起こると考えられた。さらに、Met203のより小さなアミノ酸残基への変異は、野生型酵素の酸化で観察されたものと似た基質特異性を示し、Met203のPheへの置換では、酵素活性の激減を招いた。従って、Met203は取り込む基質のゲートに関わる可能性が考えられた。他のMet残基も過酸化水素処理で酸化されるため、全てのMetを他の残基に置換した変異酵素を調製し、酸化に伴う特異性変化を評価した。その結果、触媒ドメインに位置するMet570も特異性変化に関わる残基として特定された。Met203とMet570は酵素表面から活性中心に続く通路の一部を形成するため、この通路が基質の通り道を形成し、基質認識の役割を持つと考えられた。</p>	

2. Eryngase の基質の通り道を構成する残基の変異が及ぼす特異性への影響 — 基質の通り道を構成する残基について、更なる変異解析を行い、芳香族基質の認識に関わる残基として β -プロペラドメインの内側に位置する His76、Phe180 及び Trp198 を特定した。これら残基の構造置換は、Met203 や Met570 の酸化に伴う活性変化とは逆の基質特異性の変化を示した。従って、本経路は基質の取り込みだけでなく、経路内に入った基質の触媒部位への誘導も担うと考えられた。本研究で得られた成果は、S9 POP を対象としたドラッグデザインやペプチド合成への利用展開に有益な情報を与えるものである。

3. Eryngase の酸化によるアミノリシス活性への影響 — Eryngase は加水分解と拮抗してペプチド結合形成反応であるアミノリシスを触媒する。アミノリシスでは、アシル酵素中間体が別の基質のアミノ基による求核攻撃を受け、ペプチド結合が形成される。本経路は認識する基質を調節する機能を持つと予想されたため、経路を構成するアミノ酸の酸化や変異は、水やアミノ基の認識にも影響すると考えられた。そこで、酸化処理した酵素のペプチド結合能を評価したところ、加水分解よりもアミノリシス活性の上昇が観察された。従って、本経路の改変が、ペプチド合成に特化した酵素を取得するための重要なアプローチになる可能性が示された。

以上、本学位論文は、S9 POP の基質認識機構の解明に向け、Eryngase の酸化による基質特異性変化に焦点を当てた研究を遂行し、その基質侵入経路の全容を紐解く重要な知見について詳細に述べられている。また得られたデータは新奇で独創性に富むものであり、酵素学分野での研究の発展に大きく貢献することは間違いなく、学位論文として高く評価できると判断された。