

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 千葉 洋子

グリシン代謝系は生物にとって根源的かつ不可欠な生体成分であるアミノ酸および核酸の生合成に必須である。しかし、化学合成独立栄養性細菌のグリシン代謝系はゲノム情報のみからでは予測できないことから、そこには新規代謝系や酵素が存在すると期待される。そこで、本研究は絶対独立栄養性水素細菌 *Hydrogenobacter thermophilus* の本代謝系を明らかにするとともに、得られた知見が他の生物にも当てはまるか考察した。

本論文はおおきく 3 章からなる。

第 1 章では、ゲノム、トランスクリプトーム、メタボローム情報を基に、本菌のグリシン代謝系を描くとともに、無細胞抽出液における活性を検出することで度の妥当性を生化学的に確かめた。結果、本菌はセリン、グリオキシル酸およびスレオニンからグリシンを生成可能であることが明らかになった。

前章において、スレオニンからグリシンを生成するスレオニンアルドラーゼ (TA) 活性が検出されたが、本菌は既知の TA ホモログを有さない。そこで第 2 章 1 節では何がこの TA 活性を触媒しているのか明らかにすることを目的とした。申請者は、本菌において TA 活性はグリシン - セリン間の変換反応を触媒するセリンヒドロキシメチルトランスフェラーゼ (SHMT) の副反応として触媒されていることを明らかにした。また、この副反応である TA 活性は反応温度の上昇と共に相対的に上昇するため、本菌以外でも好熱菌では SHMT が普遍的に高い TA 活性を示す可能性を示した。

第 2 章 2 節では、SHMT の副反応であるアルドラーゼ活性の反応機構および基質選択性 (すなわち、なぜ *erythro* 体よりも *threo* 体を好み、C β にメチル基が付いているものよりフェニル基が付いているものに対する活性が高いのか) が何に起因するか明らかにすることを試みた。量子力学計算から、本アルドール反応は水由来の OH \cdot が基質の β -OH 基を求核攻撃することにより起こり、C α -C β の解裂が律速段階であることが強く示唆された。また、量子力学計算から求めた種々の基質に対する活性化エネルギーとアレニウスプロットから求めた活性化エネルギーおよびアレニウス定数を比較することにより、本基質選択性は水素結合による遷移状態の安定化と、C β の官能基による負電荷の非局在化の度合いの違いに起因すると考えられた。

第 3 章では、グリシンの前駆体のひとつであるセリンを生成する新規酵素の発見し、その性状解析を行った。まず 1 節では、既知のホスホセリンホスファターゼ (PSP) とは系

統的に全く異なる新規な PSP (iPSP) を 2 種類発見した。iPSP1 は PspA のホモ 2 量体、iPSP2 は PspA と PspB のヘテロ 2 量体であった。PspA と PspB は互いに 37% の相同性を示し、その 1 次構造は全体的によく似ていたが、明確な PSP 活性 PspA サブユニットのみに存在した。

2 節では、PspA において PSP 活性に重要な要因を、構造学的な視点から探った。まず、iPSP1 の X 線結晶構造解析を行い、 1.5\AA の分解能で構造を決定した。そして、PspA において基質であるホスホセリンと相互作用するアミノ酸残基を推定した。また、構造モデリングにより予測した PspB との比較により、PSP 活性を示すには基質と水素結合するアミノ酸残基および活性ポケットへの入り口のサイズを規定する C 末端の長さが重要であることが示唆された。これらの要因を満たす PspA のホモログは *Aquificae* だけでなく *Cyanobacteria*、*Chloroflexi*、一部の *Firmicutes* などにも存在し、これら生物は既知の PSP ホモログを欠くことから、新規 iPSP は様々な生物に存在することが示唆された。よって審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。