

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (農学)	氏名	藤井 創太郎
学位授与の要件	学位規則第4条第①・2項該当		
論 文 題 目			
極限環境生物由来ヘム蛋白質の環境適応機構の解明			
論文審査担当者			
主 査	教 授	三本木 至宏	
審査委員	教 授	河合 幸一郎	
審査委員	教 授	太田 伸二	
審査委員	准教授	船戸 耕一	
〔論文審査の要旨〕			
<p>ここに提出された論文は、好熱菌に由来するシトクロム <i>c'</i>、および酸耐性ユスリカに由来するヘモグロビン等、ガス結合能を有するヘム蛋白質を対象とし、その立体構造およびガス結合の機能の観点から環境適応機構の解明を目指したものである。</p> <p>生体内における酸素や一酸化窒素等のガスの輸送・代謝は主にヘム蛋白質によって担われているが、その機能は熱や酸によって失われる。極限環境の一つとされている温泉は、高温・酸性環境として知られている。温泉に生息する生物は、高温や酸性に適応したヘム蛋白質を有していると考えられている。</p> <p>本論文は以上の背景を踏まえ展開され、下記より構成される。</p>			
序論			
序論では、研究の背景と動機が記述されている。			
第1章 好熱菌 <i>Hydrogenophilus thermoluteolus</i> 由来シトクロム <i>c'</i> の安定性			
本章では、実験に用いるシトクロム <i>c'</i> の調製方法、および安定性の測定法について述べられている。好熱菌 <i>Hydrogenophilus thermoluteolus</i> 由来のシトクロム <i>c'</i> (PHCP) が、常温菌 <i>Allochromatium vinosum</i> 由来のシトクロム <i>c'</i> (AVCP) よりも安定性が高いことが示された。			
第2章 PHCP の X 線結晶構造解析			
本章では、PHCP の X 線結晶構造解析が行われている。PHCP の構造を AVCP のものと比較することで、PHCP の安定性に寄与しうるアミノ酸残基が推測された。変異導入実験と組み合わせることで、PHCP の安定化にはヘム周辺およびサブユニット間での相互作用			

が寄与することが示された。また超遠心分析等により、作製した変異体の品質について調べられている。

### 第3章 アポ型 PHCP の構造と安定性

本章では、アポ型（ヘムがない状態）の PHCP と AVCP の調製方法およびその安定性測定について述べられている。PHCP はアポ型でも $\alpha$ -ヘリックス構造を有しており、この性質は AVCP にはない特徴であることが示された。

### 第4章 PHCP のリガンド結合能と環境適応性

本章では、PHCP の一酸化炭素やアルカリイソシアニド等のリガンドに対する結合能が調べられている。一酸化炭素について、PHCP のガス親和性が、AVCP のガス親和性よりも低いことが示され、その理由は PHCP のヘム周辺の疎水性度の強さに起因すると考察された。また、PHCP は高い安定性を有することで高温条件下でもリガンド結合能を有することが示された。

### 第5章 酸耐性ユスリカの特徴と由来するヘモグロビン

本章では、第1章から第4章までに得られたヘム蛋白質の安定性やガス親和性に関する知見を真核生物であるユスリカに波及し、ユスリカの有する多種多様なヘモグロビン成分について述べられている。また、温泉源周辺に生息する酸耐性ユスリカの分類学的特徴について述べられている。

### 第6章 酸性環境適応ヘモグロビンの探索

本章では、酸耐性ユスリカ *Chironomus sulfurosus* を対象として、酸性条件および中性条件で飼育したユスリカ幼虫を用いた網羅的な mRNA の解析 (RNA-seq) が行われている。その結果、酸性条件で飼育した際に発現量が向上するヘモグロビンが見出された。ヘモグロビンのアミノ酸配列を用いて、立体構造がシミュレーションされた。その構造比較によって、酸耐性ユスリカは安定性や酸素親和性を向上したヘモグロビンを発現することで酸性環境に適応していると考察された。

### 総括と展望

総括と展望では、第1章から第6章までの研究成果を踏まえて、ヘム蛋白質が生育圧力環境へ適応するための特性が述べられている。そして、この性質を応用した高安定・高親和性 NO センサーの開発に関する提唱が成されている。

本研究では、高温・酸性に適応したヘム蛋白質について、その構造および機能に関する知見が見出された。本論文は独創性の高いものと評価でき、蛋白質科学分野の発展に寄与すると考えられる。

以上、審査の結果、本論文の著者は博士（農学）の学位を授与される十分な資格があるものと認められる。