

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (農学)	氏名	政成 美沙
学位授与の要件	学位規則第4条第1項2項該当		
論 文 題 目			
深海性 <i>Shewanella</i> 属細菌由来シトクロム <i>c</i> の安定化機構の解明			
論文審査担当者			
主 査	教 授	三本木	至宏
審査委員	教 授	江坂	宗春
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〕			
ここに提出された論文は、深海および浅瀬に生息する4種の <i>Shewanella</i> 属細菌に由来するシトクロム <i>c</i> を対象に、立体構造の観点から蛋白質の圧力適応機構の解明を目指したものである。			
<i>Shewanella</i> 属細菌は主に海洋に生息し、その分布は浅瀬から深海にまで広がっている。海洋環境の中でも、深海は低温かつ高圧であり極限環境の一つとされている。深海に生息する <i>Shewanella</i> 属細菌は低温や高圧に適応することによって、浅瀬に生息する <i>Shewanella</i> 属細菌とは異なる性質を持つ蛋白質や脂質を生産していると考えられる。			
本論文は以上の背景を踏まえ展開され、その構成は下記の8章からなる。			
第1章 序論			
本章では、研究の背景と動機が記述されている。			
第2章 <i>Shewanella</i> 属細菌由来蛋白質の遺伝学的解析			
本章では、広く <i>Shewanella</i> 属細菌由来蛋白質の遺伝学的解析を行い、進化系統関係から環境適応性を論じている。			
第3章 野生体シトクロム <i>c</i> のクローニングと異種発現系の確立			
本章では、実験に用いる蛋白質の大腸菌を用いた異種発現系の構築について述べられている。シトクロム <i>c</i> を好氣的に生合成する際に必要な蛋白質群 (Cytochrome <i>c</i> maturation ; Ccm) の遺伝子を組み込んだプラスミドを共に大腸菌に形質転換することで、好気条件下で効率的かつ大量に実験材料であるシトクロム <i>c</i> を発現することができた。			

第4章 生育圧力の異なる細菌由来シトクロム *c* の安定性

本章では、生育圧力の異なる細菌のシトクロム *c* について熱および変性剤に対する安定性が測定され、比較されている。深海由来の蛋白質は浅瀬由来のものよりも高い熱安定性を持つことが示された。また、グアニジン塩酸塩を用いて変性剤耐性が測定された結果、やはり深海由来のものが浅瀬由来のものよりも高い変性剤耐性を持つことが示された。

第5章 結晶構造解析

本章では、深海由来シトクロム *c* の結晶構造解析が行なわれている。全体的な構造としては、浅瀬由来のものよりも深海由来の方がコンパクトにまとまっていた。両者で異なるアミノ酸は僅かであるが、その部分的なアミノ酸の変化によって深海由来の方は蛋白質内部の相互作用を強め、全体としてパッキングが詰まっていると考察している。

第6章 シトクロム *c* 構造への圧力の影響

本章では、生育圧力の異なる *Shewanella* 属細菌由来シトクロム *c* について変性剤耐性が高圧下で測定され、シトクロム *c* の構造に対する圧力の影響が調べられている。その結果、由来する細菌の生育圧力下での変性剤耐性を比較すると、深海由来の方が浅瀬由来のものより高い安定性を保持しており、「圧力適応=安定化」という蛋白質安定化の新たな機構が明らかにされた。

第7章 立体構造に基づいた安定化機構の解明

本章では、変異体が作製され、その安定性が測定された。全体の構造に影響する可能性のある 37 番目、41 番目、50 番目のアミノ酸残基について深海由来と浅瀬由来のものとの相互に入れ替える変異が導入され、これらの残基が安定化に寄与しているかどうかを確認された。その結果、一部のアミノ酸の蛋白質内相互作用によって深海由来シトクロム *c* が安定化していることが示された。

第8章 総括と展望

本章では、第2章から第7章までの研究成果を踏まえて、シトクロム *c* は由来する細菌の生育圧力環境へ適応した結果、その立体構造が安定化していることが提唱されている。

これまでに深海由来蛋白質について行われた研究は「酵素活性」を指標とした比較であり、高圧下での酵素活性に着目したものが多かった。本研究では、圧力環境に適応した蛋白質が、活性のみでなくその「立体構造」も安定化していることが見出された。本論文はオリジナル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。