OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	低温菌Shewanella sp. SIB1株の低温適応機構の分子論的解析
Author(s)	鈴木, 裕
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/45815
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名	鈴木 裕（すずき ゆたか）
博士の専攻分野の名称	博士（工学）
学位記番号	第 19443 号
学位授与年月日	平成17年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 工学研究科物質・生命工学専攻
学位論文名	低温菌 *Shewanella* sp. SIB1 株の低温適応機構の分子論的解析 Mechanisms for cold adaptation of proteins in a psychrotrophic bacterium *Shewanella* sp. SIB1
論文審査委員	（主査） 教授 金谷 茂則 （副査） 教授 宮田 幹二　教授 福井 希一　教授 福住 俊一 教授 横山 正明　教授 高井 義造　教授 伊東 一良 教授 青野 正和

論文内容の要旨

0℃近辺の低温で生育する細菌（低温菌）から、低温での触媒活性が非常に高い酵素が多く見つかっている。これは、低温での化学反応の遅さを克服するための低温適応機構の一つであると思われる。低温菌由来酵素はほぼ例外なく構造安定性が低いことから、高い酵素活性を得るためには構造安定性を犠牲にしなくてはならないのではないかと考えられている。しかし、低温菌の酵素がすべて低温で高い活性をもっているわけではない。低温菌の酵素であるにもかかわらず、低温域でさえ大腸菌由来酵素より活性の低い酵素も数多く報告されている。これらの酵素もやはり構造安定性が低いのはなぜだろうか。そこで、本研究では、低温菌 *Shewanella* sp. SIB1 株由来酵素を用い、低温菌由来酵素の構造と低温適応機構の関係について新たな知見を与えることを目指した。

本論文では、まず、第1章で、低温での高い活性と低い構造安定性という典型的な低温適応酵素の特徴を有している SIB1 株由来アルカリフォスファターゼのクローニング、および構造の不安定化を生み出す分子機構について述べた。第2章では、プロリン異性化酵素（PPIase）が SIB1 株細胞内において、低温での生育時にのみ働いている可能性があることを示した。第3章および第4章では、この PPIase の物理化学的特性からこの蛋白質の機能について考察した。その結果、この PPIase は蛋白質の折り畳み機構に関与することが強く示唆された。これは、生物が低温で生育する際、蛋白質折り畳み反応がいかに本質的な問題となるかを示している。つまり、低温に蛋白質が適応するには、高い活性だけでなく素早い折り畳み反応も実現しなくてはならないということである。低温菌由来酵素の安定性の低さはこの点にも関係しているのかもしれない。

論文審査の結果の要旨

本研究は、低温菌 *Shewanella* sp. SIB1 株由来蛋白質を研究対象とし、低温に適応した蛋白質の諸特性および分子論的な低温適応機構を明らかにすることを目的として行われた結果、以下に示す知見を得ている。第1章では、SIB1

株由来アルカリフォスファターゼ（APase）の遺伝子クローニングおよび大腸菌内での大量発現を行ない、この蛋白質の特性解析を行っている。この蛋白質は低温での高い酵素活性と低い構造安定性という特徴を有しており、これらの特徴は、荷電アミノ酸残基の減少、ジスルフィド結合の欠失、二量体形成面における相互作用の低下によってなされていることを明らかにしている。第２章ではプロリン異性化酵素（PPIase）の一種 FKBP22 の細胞内存在量が、低温で生育している SIB1 株細胞内で増加していることを明らかにしている。また、SIB1 FKBP22 の PPIase 活性は10℃で最大となり、20℃以上では大きく低下することも明らかにしている。これらのことから、SIB1 FKBP22 は低温でのみ機能し、低温適応に関与していることが示唆される。第３章では、SIB1 FKBP22 を構成しているドメインの特性について調べ、各ドメインの役割を明らかにすると共に、この蛋白質の低温適応機構に関する知見を提示している。第４章では、SIB1 FKBP22 がアンフォールドした蛋白質と疎水相互作用によって結合すること、N ドメインに基質蛋白質結合部位が存在していること、他の蛋白質の凝集を抑制する効果があることを明らかにしている。第２章から第４章の結果から、SIB1 FKBP22 はかなり広い範囲の蛋白質を基質とし低温での蛋白質折り畳みを補助していると結論している。以上のことから低温での生物の生育には非効率的な蛋白質の折り畳み反応が問題となり、低温菌はそれを少なくとも PPIase を生産するという手段で克服していることが明らかになった。第５章では総括として、以上の結果を踏まえ、低温菌由来蛋白質に多く見られる低い構造安定性やその他の性質も、非効率な蛋白質折り畳みを克服した結果かもしれないと提案している。

以上のように、本論文は SIB1 株由来酵素の解析結果に基づき、低温菌由来酵素の低温適応機構の研究に新たな視点を提示しており、低温適応蛋白質を理解する上で有益な知見を与えるものである。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。