

Title	Studies on structure and molecular dynamics in proteins from hyperthermophilic archaeon
Author(s)	山本, 喬彦
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/46847">https://hdl.handle.net/11094/46847</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名	やまもと たかひこ 山本 喬彦
博士の専攻分野の名称	博士(工学)
学位記番号	第 20283 号
学位授与年月日	平成 18 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 工学研究科物質化学専攻
学位論文名	Studies on structure and molecular dynamics in proteins from hyperthermophilic archaeon (超好熱古細菌に由来する蛋白質の構造及び分子ダイナミクスに関する研究)
論文審査委員	(主査) 教授 甲斐 泰  (副査) 教授 林 高史 教授 宇山 浩 教授 小松 満男 教授 桑畑 進 教授 大島 巧 教授 今中 信人 教授 平尾 俊一 教授 町田 憲一 教授 田川 精一

### 論文内容の要旨

古細菌は、超好熱菌や好塩菌などを含む特異な原核生物の 1 グループであり、真正細菌や真核生物と並んで第 3 のグループを構成している生物種である。古細菌は、真正細菌と同じく細胞核を持たない原核生物に属するが、遺伝情報の伝達は真正細菌よりも真核生物に類似しており、真核生物の遺伝情報の伝達サイクルをより簡略化したものであることから、真核生物における遺伝情報伝達のサイクルを理解する上での原型となりうる。また、古細菌の中でも超好熱古細菌は、最適育成温度が 95°C と超高温条件下に成育し、これらの生物に由来する蛋白質の多くは熱安定性を示すことから、超好熱古細菌に由来する蛋白質及び酵素の工業的応用が期待されている。本研究では、鹿児島県小宝島において発見された 2 種類の超好熱古細菌 *Thermococcus korakaraensis* KOD1 株及び *Aeropyrum pernix* K1 株に由来する蛋白質に焦点を当て、その構造機能相関について構造化学及び分子ダイナミクスの見地から検討した。

第 1 章では *Thermococcus korakaraensis* KOD1 株由来の TBP-interacting protein (*Tk*-TIP26) について述べる。TBP-interacting protein (TIP) は真核生物及び古細菌の転写反応には必須の TATA-binding protein (TBP) に特異的に結合する蛋白質の総称であり、古細菌から真核生物に至るまで広くその存在が確認されている。これまで数種の TIP が同定及び機能解析がされ、いずれの TIP も転写反応の制御に深く関わっていることが示唆されているが、これまでに TIP の 3 次元構造が解析された例はない。そこで、今回 TIP による転写反応制御の機構を解明することを目的として、*Tk*-TIP26 の 3 次元構造を X 線結晶構造解析により決定し、その機能を構造化学の見地から考察した。

第 2 章では *Aeropyrum pernix* K1 株由来のペルオキシレドキシシン (Prx) である Thioredoxin Peroxidase (ApTPx) について述べる。Prx は、チオール依存型のペルオキシダーゼであり、 $H_2O_2$  や alkyl peroxide を  $H_2O$  や alcohol に還元する反応を触媒する。Prx は、細菌から真核生物にいたるまで広くその存在が確認されており、これまでに様々な由来の Prx の三次元構造が決定されている。近年、超好熱古細菌 *Aeropyrum pernix* K1 株においても Prx の存在が確認され、この Prx がチオレドキシシンシステム内で機能することから、Thioredoxin peroxidase (ApTPx) と呼ばれている。ApTPx は、1 分子中に 3 つのシステイン残基 (C50、C207、及び C213) を持ち、 $H_2O_2$  を  $H_2O$  に還元

する反応を触媒する。これまでの研究から、ApTPxのアミノ酸配列は1-CysのPrxと相溶性が高いのに対し、その反応機構は2-CysのPrxと同様に2つのシステイン残基(C50及びC213)が反応に必須であることが報告されている。本章では、ApTPxによるH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>の還元機構を解明することを目的として、変異体C207Sを用いて、3種類の過酸化水素濃度条件下においてX線結晶構造解析を行った。それぞれの状態での3次元構造について、構造化学的及び分子ダイナミクスの見地から考察を行ったところ、Prxの活性中心に存在するC50が過酸化水素と反応することによって、Cysteine (Cys-SH) から、Cystein sulfenic acid (Cys-SOH) へと酸化される際の、詳細な反応メカニズムについて知見を得ることができた。

## 論文審査の結果の要旨

本論文は、超好熱古細菌に由来する蛋白質の構造機能相関について構造化学的及び分子ダイナミクスの見地から研究を行ったものである。

緒言では、古細菌の遺伝情報メカニズムが真核生物のものと類似し、かつ真核生物のものよりも簡略化されたものであることから、古細菌における遺伝情報メカニズムの解明をすることによって、真核生物のメカニズムを考える上での原型となりうる優位性を示している。また、超好熱古細菌の特性についても述べ、これらの工業的応用への期待について述べられている。

第1章では、超好熱古細菌 *Thermococcus kodakaraensis* KOD1 株由来 TBP-interacting protein (*Tk*-TIP26) のX線結晶構造解析について述べ、TBP-interacting protein の中では初めてとなる *Tk*-TIP26 の3次元構造の決定に成功したことを述べている。また、生化学的実験により *Tk*-TIP26 と TBP 複合体中における量論比を決定している。また、この量論比から *Tk*-TIP26/TBP 複合体の予想モデルを構築し、*Tk*-TIP26 による TBP と TATA-DNA 間の結合阻害機構について述べている。

第2章では、好気性超好熱古細菌 *Aeropyrum pernix* K1 株由来 Thioredoxin peroxidase (ApTPx) の還元体、反応中間体、及び酸化体の3種類のX線結晶構造解析について述べている。まず、還元体の構造では、古細菌では初めてとなる Peroxiredoxin の3次元構造を決定したことについて述べており、その構造は擬似の2回軸で形成されるダイマーが5つ集まって、リング状の10量体を形成していることを明らかにしている。中間体では Arg126 が分子表面から遠ざかることにより、活性中心 Cys50 が分子表面へと露出され、活性部位が open になるように構造変化することについて述べている。酸化体の構造では、ApTPx の活性中心が cysteine から cysteine sulfenic acid へと酸化され、さらに Cys50 の S<sup>γ</sup> 原子と His42 の N<sup>δ1</sup> 原子が共有結合を形成し、超原子価の S<sup>γ</sup> 原子をもつ構造であったことを述べている。以上、3種類の構造を用いて、ApTPx による過酸化水素の還元反応機構について、そのメカニズムを述べている。

以上のように、本論文は2種の超好熱古細菌に由来する蛋白質に関して、構造化学的及び分子ダイナミクスの見地からその構造と機能の関連性について明らかにしている。第1章での研究で得られた知見から、古細菌及び真核生物における遺伝情報伝達の解明に役立つものとなる。また、第2章で得られた知見からは、Prxの過酸化水素還元機構について詳細な反応機構について、初めて解明したものと言える。

よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。