

Title	低温菌由来RNase Hの分子多様性に関する研究 Studies on the molecular diversities of psychrotrophic RNases H
Author(s)	田所, 高志
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/48727
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"〉 大阪大学の博士論文について 〈/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	田所 高志
博士の専攻分野の名称	博士(工学)
学位記番号	第 21563 号
学位授与年月日	平成 19 年 9 月 26 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	Studies on the molecular diversities of psychrotrophic RNases H (低温菌由来 RNase H の分子多様性に関する研究)
論文審査委員	(主査) 教授 金谷 茂則 (副査) 教授 福住 俊一 教授 宮田 幹二 教授 菊池 和也 教授 高井 義造 教授 伊東 一良 教授 渡部 平司 教授 兼松 泰男

論文内容の要旨

本研究では、RNase H の多様性を、特に低温域で生育する生物種由来酵素を用いて生化学的、酵素学的に明らかにした。これまで、各ファミリーの RNase H についての解析は中温生物や好熱・超好熱性生物由来酵素を用いたものが多く、低温生物由来酵素の解析は遅れていたが、その点を明らかにしたという点で本研究は意義深い。第 1 章で、低温菌 *Shewanella* sp. SIB1 株由来 RNase HII の生化学的・酵素学的性質を明らかにし、SIB1 由来 RNase HI や大腸菌 RNase HI、HII との比較から、単一細胞内における二つの RNase H は、高活性型と低活性型に分類されること、その組合せは様々でどちらかが高活性型の機能を維持すれば他方は進化の過程でその機能を失い低活性型になることを提案した。次いで、第 2 章では、SIB1 株が低活性型の SIB1 RNase HI に加えて、比較的高い比活性を示す第 2 の type 1 RNase H (RBD-RNase HI) を持つことを明らかにした。しかも、それが既に解析されている低活性型の SIB1 RNase HI と同じく Mg^{2+} 依存の活性を示したことから、細胞にとっては比較的高い Mg^{2+} 依存の活性が必須であることが示唆された。SIB1 株は、低活性型である RNase HI の代替、もしくは協同的に機能するものとして、基質結合部位と触媒部位を分けることにより低温適応化した RBD-RNase HI を持つことで RNase HI 様の活性を補うように進化したことを提案した。また、三つ目の RNase H を備えることで、必要な RNase H の機能を維持していることを提案した。第 3 章では、SIB1 株とは異なる低温菌 *Shewanella oneidensis* MR-1 株の RNase HI、HII の細胞内における活性を明らかにし、特に高活性型である RNase HI の機能、構造、物性を解析することで、RNase HI の低温適応機構を明らかにした。低温菌蛋白質が分子内イオンペアを減少させることで、安定性を減少させるという機構を提案した。同様の知見が(超)好熱菌蛋白質の研究でも見出されていることから、この機構は、全ての温度域に生育する生物由来蛋白質に適用できる機構であることを提案した。

以上のように、本論文はこれまでほとんど行われてこなかった、低温菌由来 RNase H の分子多様性について、複数の生物種由来 RNase H の生化学的・酵素学的解析を行うことにより、低温菌が 3 つの RNase H を持つという特徴を示すことを明らかにした。分子多様性を見出している。また、低温菌蛋白質の構造や物性を明らかにすることにより、蛋白質の構造構築原理の理解に繋がる知見を与えた。

論文審査の結果の要旨

本研究は、RNase H の多様性を、特に低温域で生育する生物種由来酵素を用いて生化学的、酵素学的に明らかにしている。これまで、各ファミリーの RNase H についての解析は中温生物や好熱・超好熱性生物由来酵素を用いたものが多く、低温生物由来酵素の解析は遅れていたが、その点を明らかにしたという点で本研究は意義深い。第1章では、低温菌 *Shewanella* sp. SIB1 株由来 RNase HII の生化学的・酵素学的性質を明らかにし、SIB1 由来 RNase HI や大腸菌 RNase HI、HII との比較から、単一細胞内における二つの RNase H は、高活性型と低活性型に分類されること、その組合せは様々でどちらかが高活性型の機能を維持すれば他方は進化の過程でその機能を失い低活性型になることを提案している。次いで、第2章では、SIB1 株が低活性型の SIB1 RNase HI に加えて、比較的高い比活性を示す第2の type 1 RNase H (RBD-RNase HI) を持つことを明らかにしている。しかも、それが既に解析されている低活性型の SIB1 RNase HI と同じく Mg^{2+} 依存の活性を示したことから、細胞にとっては比較的高い Mg^{2+} 依存の活性が必須であることが示唆されている。SIB1 株は、低活性型である RNase HI の代替、もしくは協同的に機能するものとして、基質結合部位と触媒部位を分けることにより低温適応化した RBD-RNase HI を持つことで RNase HI 様の活性を補うように進化したことを提案している。また、三つ目の RNase H を備えることで、必要な RNase H の機能を維持していることを提案している。第3章では、SIB1 株とは異なる低温菌 *Shewanella oneidensis* MR-1 株の RNase HI、HII の細胞内における活性を明らかにし、特に高活性型である RNase HI の機能、構造、物性を解析することで、RNase HI の低温適応機構を明らかにしている。低温菌蛋白質が分子内イオンペアを減少させることで、安定性を減少させるという機構を提案している。同様の知見が（超）好熱菌蛋白質の研究でも見出されていることから、本機構は、全ての温度域に生育する生物由来蛋白質に適用できる機構であることを提案している。

以上のように、本論文はこれまでほとんど行われてこなかった、低温菌由来 RNase H の分子多様性について、複数の生物種由来 RNase H の生化学的・酵素学的解析を行うことにより、低温菌に特徴的な3つの RNase H を持つという分子多様性を見出している。また、低温菌蛋白質の構造や物性を明らかにすることにより、蛋白質の構造構築原理の理解に繋がる知見をも与えている。

よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。