HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Structural and functional characterization of ice-binding proteins from cold-adapted fungi [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	新井, 達也
Citation	北海道大学. 博士(生命科学) 甲第13605号
Issue Date	2019-03-25
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/74318
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Tatsuya_Arai_abstract.pdf (論文内容の要旨)

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

博士の専攻分野の名称　博士（生命科学）　氏　名　　新井　達也

学 位 論 文 題 名

Structural and functional characterization of ice-binding proteins from cold-adapted fungi
（低温適応菌類由来氷結晶結合蛋白質の構造及び機能解析）

南極や北極などの低温環境に生息する微生物は、環境適応の一環として様々な凍結保護分子を生産している。そのような低温環境適応分子の一つとして、氷結晶結合タンパク質(ice-binding protein: IBP)が知られている。IBP は、微生物の周りに存在している氷の成長を抑制することで宿主の生存に貢献していると考えられている。

菌類は菌界に属する真核生物の総称であり、低温環境を含む様々な環境に広く普遍的に存在している。菌界のうち、子嚢菌門(いわゆるカビなど)と担子菌門(いわゆるキノコなど)が代表的な 2 つ門として知られている。担子菌の IBP の研究は遺伝的、機能的、蛋白質構造的に多く報告されているが、担子菌と姉妹関係にあたる子嚢菌の IBP に関する報告は非常に少ない。子嚢菌由来の IBP 様遺伝子はデータベースに多数登録されているが、これらの解析も進んでおらず、氷結晶結合機能を有するのかどうかもわかっていない。本研究では南極土壌から単離された子嚢菌 *Antarctomyces psychrotrophicus* を研究対象として実験を行った。この菌は IBP を菌体外に分泌することが知られている唯一の子嚢菌であり、子嚢菌における IBP の生物学的意義と遺伝的背景の解析に最適なサンプルであると考えられる。

まず、*A. psychrotrophicus* の全 cDNA 解析を行うことで、3 種類の AnpIBP 遺伝子を検出することに成功した。これらの cDNA 配列を *A. psychrotrophicus* のゲノムから PCR 法により増幅し、ゲノム上での配列を調べたところ、3 種類の cDNA のうち 2 種類は、一つの遺伝子座位から選択的スプライシングに転写よってされることが明らかになった。つまり、ゲノム上に存在する AnpIBP 遺伝子の数は 2 つであることがわかった。この二つの AnpIBP を AnpIBP1, AnpIBP2 と名付け、さらなる遺伝的解析を行った。微生物 IBP の系統解析により、AnpIBP1、2 を含む子嚢菌の IBP は、姉妹関係にある担子菌の IBP よりも遠縁のバクテリアの IBP と近縁関係にあることがわかった。これは子嚢菌がバクテリアから IBP 遺伝子を獲得した可能性を示している。このような現象は、遺伝子の水平伝播(horizontal gene transfer: HGT)として知られており、適応が難しい極限環境で起きやすいとされている。さらに、二つの AnpIBP 遺伝子の相同性は低く、系統樹上で隣接しないということも明らかになった。この結果は、2 つの AnpIBP 遺伝子が別々の HGT で獲得された産物であると推察される。

AnpIBP の生理的機能を調べるために、酵母 *Pichia pastoris* を宿主として遺伝子組換え AnpIBP を作製した。発現・精製した AnpIBP の収量は約 200 mg/1 L 培養液であり、様々な実験を行うのに十分な量であった。この組換え AnpIBP の不凍活性を評価したところ、300 μM で約 0.7℃の凝固点降下機能を有することが明らかになった。また、わずか数 μM で氷の再結晶化を完全に阻害することが明らかになった。実際の環境では AnpIBP 分子は溶液中で拡散し、それほどの高濃度で存在するとは考えづらい。よって、AnpIBP の主たる機能は氷の再結晶化を阻害することであると考えられる。

以上の結果より、IBP 遺伝子及びその水平伝播は低温環境子嚢菌の進化に重要な役割を果たしていると考えられる。