



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	<a href="http://hdl.handle.net/2115/74318">http://hdl.handle.net/2115/74318</a>
Rights(URL)	<a href="https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/</a>
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](#)

# 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、子囊菌門(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囊菌のIBPに関する報告は非常に少ない。子囊菌由来の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はわかっていない。本研究では南極土壌から単離された子囊菌 *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囊菌であり、子囊菌における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を含む子囊菌の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。これは子囊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  $\mu$ Mで約0.7°C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 $\mu$ M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囊菌の進化に重要な役割を果たしていると考えられる。