



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Study on the structure and function of β -helical antifreeze proteins from cold-adapted microorganisms [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	花田, 祐一
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(生命科学)
Dissertation Number	甲第11554号
Issue Date	2014-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/57289
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Yuichi_Hanada_review.pdf, 審査の要旨



学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士（生命科学）

氏 名 花田 祐一

審査担当者	主 査	客員准教授	近 藤 英 昌
	副 査	客員教授	津 田 栄
	副 査	教 授	出 村 誠
	副 査	准教授	相 沢 智 康

学 位 論 文 題 名

Study on the structure and function of β -helical antifreeze proteins
from cold-adapted microorganisms
(微生物由来不凍タンパク質の構造と機能に関する研究)

博士学位論文審査等の結果について（報告）

不凍タンパク質は氷結晶の表面に特異的に結合するタンパク質である。不凍タンパク質が結合することによって氷結晶の成長が抑制され、氷結晶が成長し始める温度である凝固点が融点よりも低下する現象（熱ヒステリシス）や、氷の再結晶化の阻害が起こる。これまでに低温環境下に生息する生物から数多くの種類の不凍タンパク質が見出されており、生体の凍結による損傷の回避に寄与していると考えられている。それぞれの不凍タンパク質は氷結晶に結合する共通した性質を有しているが、結合の強さや特異性、及びアミノ酸配列や立体構造は大きく異なっている。このため、これら不凍タンパク質群は異なる祖先分子から氷結晶に結合する性質をもつように収斂的に分子進化してきたと考えられている。そのため、様々な不凍タンパク質が氷結晶に結合する機構を明らかにすることは、生物の耐凍性の獲得や低温環境への適応のプロセスを解明するとともに、タンパク質と固体表面の間に働く相互作用に関する知見を得ることにつながる。

本論文では、これまでにあまり焦点が当てられていなかった、細菌やキノコ、ケイ藻などの微生物に由来する不凍タンパク質を対象として、氷結晶結合機構に関する知見を得ることを目的とした。そのために、南極の海氷から単離された細菌 *Colwellia* sp. が分泌する不凍タンパク質 (*Col* 不凍タンパク質)、好冷性のキノコ *Typhula ishikariensis* やケイ藻 *Navicula glaciei* の不凍タンパク質と氷結晶の相互作用を様々な方法によって解析した。その結果、これらの微生物不凍タンパク質は、アミノ酸配列の相同性が高いにもかかわらず、氷結晶に対する結合の強さや特異性には幅広い多様性が存在することが明らかとなった。このことは他の種類の不凍タンパク質では知られていない新たな知見である。特に、*Col* 不凍タンパク質は、約 4℃ の高い熱ヒステリシスを示し、氷結晶のあらゆる結晶面に対して非常に強く結合することがわかった。次に、*Col* 不凍タンパク質の氷結晶結合に関する分子基盤を明らかにするため、*Col* 不凍タンパク質の立体構造を X 線結晶構造解析法によって決定した。*Col* 不凍タンパク質は、立体構造が既知の他の微生物不凍タンパク質と同様に β ラセンを主とした立体構造であることがわかった。他の微生物不凍タンパク質では β ラセンの表面に存在する平坦な領域が氷結晶に結合する部位であると示されている。*Col* 不凍タンパク質が氷結晶に結合する部位を同定するために、分子表面の複数の部位に変異導入を行い、変異体の不凍活性を評価した。その結果、*Col* 不凍タンパク質では、他の微生物不凍タンパク質で示されている領域に加えて、隣接するターン構造の領域も氷結晶の結合に関与している可能性が示唆された。さらにこのことを立証するために、分子モデリングによって不凍タンパク質と氷結晶の結合モデルの構築を行った。その結果、*Col* 不凍タンパク質は変異体実験により推

定された 2 つの氷結晶結合部位のどちらでも、基底面を含む複数の氷結晶面に結合することが示された。*Col* 不凍タンパク質は他の高い活性を示す不凍タンパク質とは異なり、氷結晶結合部位のアミノ酸残基は一樣ではなく特定の残基による反復構造を有していない。その代替として、*Col* 不凍タンパク質は多様な氷結晶面に特異性を示す 2 つの氷結晶結合部位を持つことにより、氷結晶に対する高い結合能を獲得したと考えられる。

これを要するに、著者は、微生物不凍タンパク質について氷結晶結合機構の新知見を得たものであり、生物の耐凍性獲得の構造基盤の解明に対して貢献するところ大なるものがある。

よって著者は、北海道大学博士（生命科学）の学位を授与される資格あるものと認める。