HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Functional Analysis of a Supersoluble Fish Antifreeze Protein [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	MAHATABUDDIN, SK.
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(生命科学)
Dissertation Number	甲第12722号
Issue Date	2017-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/65547
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	SK.MAHATABUDDIN_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学　位　論　文　審　査　の　要　旨
Doctoral Dissertation Evaluation Review

博士の専攻分野の名称　博士（生命科学）　氏　名　シエイク　マハタウッディン
Degree requested: Doctor of （Life Science）　Name:　SK. MAHATABUDDIN

審査担当者	主査	客員教授	津田　栄
	副査	教　授	出村　誠
	副査	客員准教授	近藤英昌

学　位　論　文　題　名
Title of Doctoral Dissertation

Functional Analysis of a Supersoluble Fish Antifreeze Protein
(高溶解性魚類不凍タンパク質の機能解析)

博士学位論文審査等の結果について（報告）
Results of Evaluation of the Doctoral Dissertation (Report)

平成２９年２月１日に実施した本学位審査会において シェイク　マハタウッディンは、寒冷地魚類の組織液から新たに見出した高機能型不凍タンパク質 BpAFP に関する博士課程研究の成果について発表し、審査担当教員から多くの試問を受け的確に解答した。発表は当該研究の背景、目的、実験、結果、考察、結論に分けて行われた。背景では、不凍タンパク質が 1960 年代後半に極地に生息する低温適応魚類が有する特異的成分として発見された後、現在までに得られているアミノ酸組成、生化学・物理化学的性質、分子構造、そして氷結晶結合機能等の知見について述べた。特に、氷結晶の表面は様々な異なる水分子の組で構成されており、不凍タンパク質がそれらを認識するメカニズムが不明であることを詳述した。目的では、異常に高い水溶性をもつ BpAFP の氷結晶結合メカニズム解明であることを説明した。実験では、分子生物学の手法、自作の氷結晶観察装置、顕微鏡等光学的手法、タンパク質 X 線回折法、NMR 解析法を組み合わせことによって、BpAFP のアミノ酸組成、分子構造、氷結晶結合機能を解析したことを説明した。結果では以下の内容を説明した。

１）　低濃度の BpAFP の遺伝子組換え体を球状に成形した氷の単結晶（φ=2cm）
２）　に作用させるとピラミダル面と呼ばれる氷結晶部位にのみ結合したこと。
３）　BpAFP の濃度を少しずつ高めながら同様の実験をすると、全ての氷結晶が光るように変化すること。
４）　BpAFP 水溶液を実際に顕微鏡下で凍らせて氷核を調べると BpAFP の濃度を高めるに連れて先の尖ったバイピラミッド型から丸みを帯びたレモン型に変化しそのサイズが次第に小さくなること。
５）　氷結晶結合力の指標である BpAFP の熱ヒステリシスの最大値は既知の高機能型不凍タンパク質に観測される高い値（3.2℃）であること。
６）　BpAFP は連続したアラニン（A）を多く含む 40 残基のアミノ酸配列から成る比較的小さな分子であること。
７）　円二色性の実験から BpAFP は分子表面にスレオニン（T）を等間隔で配

置したαらせん型構造を形成すると予想されること。

８）　沈降法の実験からBpAFPが水溶液中で互いに結びつき４量体や８量体を形成すると予想されること。

９）　BpAFPの構造は100℃への加熱後に再生され、ｐＨ３～１１の間で安定であること。

考察の項では、コンピューターを用いてBpAFPの分子構造モデルと氷結晶の整合性を解析した結果を示しながら、BpAFPが濃度依存的にその結合の相手を氷結晶の全面に拡大して行くとする推察について詳述した。以上の結果に基づき、水溶性に優れシンプルで安定性の高い分子構造をもつBpAFPは、連結して氷核の全表面を覆い尽くす特別な性質を有することで、様々に異なる水分子の組から成る氷の結晶表面に結合することが出来ると結論づけた。

近年、iPS細胞や希少性の高い生体組織を用いた先端医療を一般化する為に新たな保管輸送技術を開発することの重要性が高まっており、液体窒素等を使わない低コストで安全な冷凍保管技術が必要とされている。このような状況において、本研究は北海道に生息する食用魚類由来のタンパク質を不凍材料に応用し新たな保管輸送技術の開発に道を拓くものである。高精製度品の大量生産も可能なBpAFPの強力な氷結晶結合メカニズムを解明した本研究は、当該分野に関わる次世代バイオテクノロジーの基礎と応用の両方に非常に大きな貢献をするものである。

よって、当該学位論文の著者であるシェイク　マハタウッディンは、北海道大学博士（生命科学）の学位を授与される充分な資格があるものと認める。