

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	初期型光合成の制御に関わる硫化水素応答性転写因子の同定と機能解析
Title(English)	
著者(和文)	清水隆之
Author(English)	Takayuki Shimizu
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第10586号, 授与年月日:2017年6月30日, 学位の種別:課程博士, 審査員:増田 真二,太田 啓之,駒田 雅之,久堀 徹,中戸川 仁,松浦 克美
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第10586号, Conferred date:2017/6/30, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

(博士課程)

論文審査の要旨及び審査員

報告番号	甲第		号	学位申請者氏名		清水 隆之	
論文審査 審査員		氏 名		職 名		氏 名	職 名
	主査	増田 真二		准教授		中戸川 仁	准教授
	審査員	太田 啓之		教授	審査員	松浦 克美	教授
		久堀 徹		教授			
		駒田 雅之		教授			

論文審査の要旨（2000 字程度）

本論文は、「初期型光合成の制御に関わる硫化水素応答性転写因子の同定と機能解析」と題し、紅色光合成細菌から硫化水素に応答して遺伝子発現を制御する新規の転写因子を同定し、その応答の分子メカニズムを明らかにしたものであり、以下の4章で構成されている。

第1章では、本博士論文研究の背景を、これまでの硫化水素による細胞機能の調節機構に関する研究の変遷と共に概説している。具体的には、1) 光合成の初期段階では、水よりも酸化が容易な硫化水素などのイオウ化合物を電子供与体に光合成が行われていたと考えられること、2) 硫化水素を電子供与体に光合成を行う細菌種が現在も多数同定されていること、3) 光合成細菌の硫化水素に依存した光合成電子伝達に関する報告は多数存在するが、硫化水素応答性の制御因子は同定されていないこと、等から、硫化水素の応答機構は初期の光合成の進化にとって重要であったと考えられるが、その制御機構は未だ不明であることを述べている。また近年、動物において硫化水素が、血管新生、小胞体ストレス調節、インスリン分泌や神経伝達の調節などに関与することがわかり、そのシグナル伝達が注目されていることを述べている。この生理機構において、硫化水素自体はシグナル伝達分子ではなく、硫化水素を介して生成されるスルフヒドリルラジカル、システインスルフェン酸、有機低分子ヒドロジスルフィド（パースルフィド）、システインパースルフィド、グルタチオンパースルフィド（GSSH）といった所謂「活性イオウ分子種」がシグナル伝達物質の本体であると考えられているが、タンパク質および酵素のパースルフィド化の機能的影響は一般的には明らかではなく、硫化水素によるシグナル伝達は、いまだ研究途上の段階にあり、詳しい制御機構については不明な点が多いことを述べている。

第2章では、紅色光合成細菌 *R. capsulatus* から、硫化水素依存的な光合成のマスターレギュレーターとして機能する硫化水素応答性転写因子 SqrR を同定したことを報告している。同定した *R. capsulatus* の SqrR は3つのシステイン残基を持ち、そのうちの2つ（Cys41 と Cys107）は異なる細菌種の SqrR ホモログ間に保存されていた。LC-ESI-MS/MS 等の解析により、SqrR は、Na₂S と酸化型グルタチオン（GSSG）で同時処理することで、Cys41 と Cys107 の間で分子内テトラスルフィド結合を形成することを明らかにした。テトラスルフィド結合を形成した SqrR は、修飾を受けていない状態と比較して、標的オペレーター領域への DNA 結合親和性が低くなった。保存された2つのシステイン残基の各点変異株（C41S および C107S）は、硫化水素応答性を失い、標的遺伝子の発現を常に抑制していた。溶液中において Na₂S は速やかに HS⁻ となり、共存している GSSG は、HS⁻ によって酸化能力が高い GSSH に変換されることが知られている。これらの結果が

ら SqrR は、硫化水素依存的に生成される GSSH をはじめとした活性イオウ分子種を認識し、硫化水素代謝に必要な遺伝子発現を誘導するリプレッサーとして機能していると結論している。

第 3 章では、SqrR がヘム結合性タンパク質であることを報告している。試験管内において SqrR はヘムを 1:1 の割合で結合し、その結合定数は、他のヘムタンパク質であるカタラーゼとほぼ同様であった。一方、通常条件で培養した *R. capsulatus* から SqrR を精製したところ、その約 0.2% のみがヘムを結合していたことから、SqrR は恒常的にヘムを結合しているわけではないことを報告している。また部位特異的変異体の解析結果から、S41 と Y88 がヘムのリガンドとなる可能性を指摘している。SqrR の標的オペレーターへの DNA 結合親和性は、ヘムが結合することで有意に低下したことから、SqrR の転写抑制活性は、ヘムの結合により負に制御されることを明らかにしている。

第 4 章では、得られた結果を総括し、紅色細菌の硫化水素代謝に関わる遺伝子群の硫化水素依存的な転写制御の分子機構が明らかになったこと、また光合成の進化過程における SqrR の獲得と多様化を議論している。さらに、SqrR はその DNA 結合能力を硫化水素濃度だけでなく、ヘム濃度にも依存させることで、活性イオウ分子種依存的な代謝制御のダイナミクスをより向上させているとする、SqrR を介した遺伝子発現制御機構の独自のモデルを提唱している。

以上を要するに、本論文は、紅色細菌を利用して、新規の硫化水素・活性イオウ分子種応答性の転写因子を同定し、その応答機構を分子レベルで明らかにしたものであり、理学上貢献するところが大きい。よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分な価値があるものと認められる。

注意：「論文審査の要旨及び審査員」は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。