

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	シアノバクテリアSynechococcus elongatus PCC 7942の熱ショック応答と高温耐性の制御因子の機能解析
Title(English)	
著者(和文)	長谷川葉月
Author(English)	Hazuki Hasegawa
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12337号, 授与年月日:2023年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:田中 寛,久堀 徹,太田 啓之,和地 正明,増田 真二,吉田 啓亮
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12337号, Conferred date:2023/3/26, 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

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	長谷川葉月	
論文審査 審査員		氏名	職名		
	主査	田中 寛	教授	増田 真二	准教授
	審査員	久堀 徹	教授	吉田 啓亮	准教授
		太田 啓之	教授		
		和地 正明	教授		

論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「シアノバクテリア *Synechococcus elongatus* PCC 7942 の熱ショック応答と高温耐性の制御因子の機能解析」と題し、和文で書かれ、6章で構成されている。

「序章」では、すべての生物が持つ高温馴化・熱ショック応答に関する既知のメカニズムや重要性について概説している。先行研究から酸素発生型光合成を行うシアノバクテリアの一種 *Synechococcus elongatus* PCC 7942 (以下 *S. elongatus*) において、二成分制御系 Hik2-Rre1 が熱ショック応答に関与することが明らかとなっているが、その制御機構の全容は未解明であり、本論文ではその制御機構の解明のために 2 種類のタンパク質に注目し、機能解析を通して新たな制御モデルを提案すると述べている。また、研究の過程で偶然に得られた *S. elongatus* の高温感受性株のゲノム解析から、高温耐性に重要な遺伝子の同定に取り組んだことを述べている。

第 1 章「シアノバクテリア *Synechococcus elongatus* PCC 7942 の温度と増殖速度」では、*S. elongatus* における生育温度と増殖速度、温度変化と熱ショック応答の関係性について検討し、*S. elongatus* の高温馴化及び熱ショック応答の評価を行うのに適した温度条件の検討を行った結果を述べている。

第 2 章「シアノバクテリア *Synechococcus elongatus* PCC 7942 における主要シグマ因子結合タンパク質 SinA の機能解析」では、熱ショック応答のセンサーキナーゼ Hik2 をコードする遺伝子と隣接して、進化的に保存された機能未知遺伝子を見出し、この遺伝子産物が RNA ポリメラーゼの主要シグマ因子 (RpoD1) と結合する性質を持つことから SinA (Sigma Interacting Protein A) と命名している。機能解析の結果、*sinA* 欠損株が著しい高温感受性を示すこと、Hik2 のリン酸化標的である転写因子 Rre1 量を低く保つことで制御標的遺伝子の発現調節に関わる可能性を示唆している。以上のことを総合し、SinA が高温馴化に必須な機能をもつと推定している。

第 3 章「シアノバクテリア *Synechococcus elongatus* PCC 7942 における Hsp70 型シャペロン DnaK2 による熱ショック応答転写ネガティブ制御機構」では、*S. elongatus* における Hik2-Rre1 依存的熱ショック応答の時間的な変化に注目している。通常の熱ショック応答は一過的であるが、翻訳阻害剤存在下では一旦起きた応答が終息しない。このことから、熱ショック応答で誘導されるタンパク質の新規合成が熱ショック応答の抑制に必要であるという仮説を立てて、その検証を試みている。大腸菌等で Hsp70 型シャペロン (DnaK) が熱ショック応答の抑制因子として知られていることから、本研究では *S. elongatus* における大腸菌の DnaK オルソログであり、Rre1 制御下熱ショック応答遺伝子でもある DnaK2 に注目した。*dnaK2* 遺伝子の過剰発現誘導により熱ショック時の Rre1 リン酸化が抑制されること、熱ショック以外の Hik2-Rre1 経路活性化条件下においても *dnaK2* 過剰発現によって Rre1 リン酸化が抑制されたこと、*dnaK2* 以外の Rre1 制御下シャペロンの過剰発現によっては熱ショック応答における Rre1 リン酸化は抑制されなかったことから、本論文では DnaK2 が Hik2-Rre1 活性化条件全般において Rre1 リン酸化を特異的に抑制すると結論している。さらに AlphaFold2 による構造予測で Hik2 と DnaK2 の相互作用が示唆されたことから、*S. elongatus* において DnaK2 が、Hik2 活性化状態の制御を介して Hik2-Rre1 依存的転写をフィードバック抑制する制御モデルを提案している。

第 4 章「tRNA 変異による *Synechococcus elongatus* PCC 7942 の高温感受性」では、高温感受性を示す *S. elongatus* 株 (H1) の全ゲノム解析を行い、tRNA-Leu をコードする遺伝子である Synpcc7942_R0040 が 1 塩基変異を生じ、t-arm が 5 塩基対から 4 塩基対になったことが高温感受性の原因であると結論している。さらに H1 株から得られた高温非感受性株 (サプレッサー株) の全ゲノム解析により、tRNA/tRNA の分解に関わる NYN ドメインを持つ機能未知遺伝子 *nynA* (Synpcc7942_1640) に抑制変異

箇所を特定している。tRNA-Leu 遺伝子の相補株では高温耐性が回復したことから、H1 株では変異型の tRNA-Leu が高温下で NynA に分解されることで高温での増殖が阻害されたことを述べている。そして、*S. elongatus* の高温耐性に tRNA-Leu の構造的安定性の重要性を指摘している。

「総括」では、第 2 章と第 3 章の結果を踏まえて、*S. elongatus* における熱ショック応答の制御モデルを提案し、また第 4 章の結果を踏まえて tRNA の構造依存的な高温耐性について考察している。以上を要するに、本論文は光合成生物であるシアノバクテリアの熱ショック応答の新規制御因子と高温耐性における tRNA の重要性を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。