

学位（博士）論文の要旨及び審査結果の要旨

学位記番号	乙第二号	学位授与年月日	令和6年3月19日
氏名（カナ）	中村（松波） 梨佐 （ナカムラ（マツナミ） リサ）		
論文題目（和）	高度好塩古細菌の走光性センサー・トランスデューサー間のシグナル伝達分子機構解明に向けた新たな視点の構築		
論文題目（洋）	A New Perspective on the Molecular Mechanism of Signal Transduction between Phototaxis Sensor and Transducer Proteins in Highly Halophilic Archaea		
審査委員	主査： 松山大学 教授 中島 光業 副査： 松山大学 准教授 田邊 知孝 副査： 松山大学 准教授 奈良 敏文		
受理日	令和5年11月30日		
公開発表日	令和5年12月14日		
審査終了	令和6年2月2日		

博士論文審査結果（要旨）

博士（薬学） 中村（松波） 梨佐

論文題名 高度好塩古細菌の走光性センサー・トランスデューサー間のシグナル伝達分子機構解明に向けた新たな視点の構築

1. 内容の要旨

高度好塩古細菌 *Natronomonas pharaonis* (*Np*) の走光性受容体 SRII は、トランスデューサー HtrII と共役し、青緑色から逃げる走光性を司る。G タンパク質共役型受容体に似た 7 回膜貫通の SRII は、光励起により内包するレチナールが異性化し、いくつかの中間体を経て基底状態に戻る光サイクルを示す。SRII-HtrII 間の情報伝達は、異性化レチナールと近傍 Thr204 の干渉が Thr204-Tyr174 間の水素結合を変え、これが F ヘリックスの傾倒を生み、隣接する HtrII に光情報が伝わる「Membrane-embedded steric trigger model (MST model)」としてまとめられる。この分子機構では SRII の Thr204 と Tyr174 が重要とされ、それらの変異体で光応答の消失が示された。また、MST model に従った変異導入で、光駆動 H⁺ポンプ bacteriorhodopsin を光センサーとして機能させることに成功したことで、MST model の正しさが実証されたかに思われた。

本研究では、まず MST model の普遍性を確かめる為に、近縁の古細菌 *Halobacterium salinarum* (*Hs*) の SRII-HtrII (*HsSRII-HsHtrII*) を用いて、Thr204 と Tyr174 に相当する部位の役割を調べた。その結果、Ser201 と Tyr171 の部位特異的変異体はすべて光応答を示したことから、これらのアミノ酸残基は SRII のシグナリング機能に不可欠ではないことが分かった。ただし、Tyr174 に相当する側鎖は光刺激への素早い応答に必要であること、シグナリングする M/O 中間体の崩壊速度を調節する役割をもつことを見出した。

HsSRII-HsHtrII と *Np* の SRII-HtrII (*NpSRII-NpHtrII*) は良く似たセンサー・トランスデューサーにも関わらず、MST model で重要とされる上記 2 種のアミノ酸残基の部位特異的変異体において光応答に差異を生じたこと、また別の報告では SRII-HtrII 間のシグナル伝達は光サイクル後期中間体で起こるとされたが、MST model では初期中間体の事象であることにも疑問が残った。そこで、SRII と HtrII をリンカーで繋いだ従来の解析系ではなく、より天然に近い分離した状態で発現する菌体を用いて、これまでの知見の整理と *NpSRII-NpHtrII* における MST model の検証を行った。その結果、Thr204 と Tyr174 を種々のアミノ酸に置換した変異体は、以前の報告とは異なりどれも光反転応答を示した。対照としたリンカー型発現での T204A および Y174F 変異体では、光応答の消失が確認できた。つまり、変異体の表現型の違いはリンカー接続型と分離型という発現型の違いに帰着され、自然界における分離型発現の SRII-HtrII では、MST model が成り立たないと考えられる。更に、分離型 *NpSRII-*

*Np*HtrII における Tyr174 部位は光刺激への素早い応答に必要であること、そして、Y174A 変異体では光応答が消失することを見出した。以上のことから、自然界に存在する分離型発現での SRII-HtrII のシグナル伝達は、従来の MST model とは異なる分子機構であること、そして新たに Tyr174 位こそが重要な側鎖であることが明らかになった。本研究成果は、SRII-HtrII 間の情報伝達の分子機構の解明に向け、新たな視点の提供に繋がるものと考えられる。

2. 審査結果の要旨

生物の構成単位である細胞は、外部環境の変化を受容しながら生命活動を維持している。細胞外の情報を受容する仕組みは様々であるが、光情報を受容する細胞では発色団を含むタンパク質が外部情報を感知・伝達して生理機能を制御している。古細菌の一種である高度好塩菌では、発色団レチナールを含む光受容タンパク質としてセンサーロドプシンが知られている。しかし、このタンパク質が受容した光情報をトランスデューサータンパク質に伝えて最終的に細胞内分子の活性化へと繋げる分子機構については、十分に解明されていない。申請者は、センサーロドプシンからトランスデューサーへの情報伝達に関する分子機構を解析するに当たり、顕微鏡による観察が可能な走光性の制御という表現型を活用できる高度好塩菌 (*Natronomonas pharaonis* (*Np*) と *Halobacterium salinarum* (*Hs*)) を研究材料として選定した。

高度好塩菌のセンサーロドプシン・トランスデューサー間の情報伝達機構に関しては、*Np* を用いた研究から考案された光情報の細胞内情報伝達に関する「Membrane-embedded steric trigger model (MST model)」が広く認知されている。このモデルでは、*Np* のセンサーロドプシンのアミノ酸配列のうちの2つの極性アミノ酸 (Thr204 と Tyr174) が、トランスデューサーへの情報伝達において重要な働きをしているとされている。しかし、このモデルに対し光反応サイクルの変化などに関して疑問が認められたため、申請者は、このモデルの妥当性の評価を行うことを目的として研究を開始した。研究は *Np* と *Hs* を用いて進められ、上述の極性アミノ酸部位へ変異を導入するなど、分子生物学的手法を用いて解析を行い、いずれの高度好塩菌においても、センサーロドプシン・トランスデューサー間の情報伝達機構は MST model で説明できないことを明快に示した。

以上のように本研究は、センサーロドプシンからトランスデューサーへの光情報伝達における分子機構に関して、従来広く認知されていた MST model に対し、これとは異なる機構が存在することを示唆するものである。この成果は、細胞外の環境変化を細胞内に伝達する仕組みの一つを分子レベルで明らかにするものであり、薬学のみならず、医学・生物学の発展に大いに寄与する知見である。

本博士論文に係る口頭発表による公開発表会は令和5年12月14日に、論文内容に関する口頭試問については令和6年1月16日に行われた。本学位論文に記載された研究成果は学術性が高く、その内容は薬学に関連する学問領域の発展に寄与すると考えられることから、審査員が全員一致して博士(薬学)の学位を授与するに値するものと判定した。