

## 学位論文審査の結果の要旨

氏名	秋田 もなみ
審査委員	主査 足立 亨介
	副査 森岡 克司
	副査 小川 雅廣
	副査 合谷 祥一
	副査 岸田 太郎

### 論文名

Studies on the adaptations to deep sea environment of type I collagens of *Coryphaenoides yaquinae* and other species

(シンカイヨロイダラを中心とした魚類 I 型コラーゲンの環境適応に関する研究)

### 審査結果の要旨

海洋環境は地球上表面積に相当し、その 200m 以深の深海環境は海洋全体の体積の 95% を占める。深海環境を大きく特徴づけるのは水温と圧力である。水は大気に比べて非常に大きな熱容量を持つため、一般に海洋生物は陸上生物に比べてより鋭敏にその生息温度に適応した生体分子を有すると考えられる。また、海洋環境では水深 10m ごとに 0.1MPa 圧力が上がる。深海 5000m では 50MPa、すなわち 500kg/cm<sup>2</sup> の圧力下に適応して生物は活動している。この 2 つの要素は一般に生化学反応が進行する上で非常に大きな役割を果たすが、深海魚の持つタンパク質と両者の関連性は未だミオシン、アクチンなど限られた分子での報告がなされているにすぎない。一方で、再生医療など多くの分野に非常に応用性の高いコラーゲンについては深海魚での知見はこれまでにない。そこで本研究では深海 4000-6000m に生息するシンカイヨロイダラ (*Coryphaenoides yaquinae*) を中心に I 型コラーゲンの構造と機能を水温および圧力の面から考察することを目的とした。

コラーゲンは生物体の構造の維持に寄与し、皮、骨、軟骨など様々な組織に含まれる。その中でも I 型コラーゲンは主要なものとされる。同分子は細胞外マトリクスの主要な構成成分で硬骨魚類では  $\alpha 1-3$  の 3 本ポリペプチド鎖が 3 重らせん構造をとることが明らかになっている。このらせん構造は種を問わずポリペプチド鎖内の 338 回の Gly-X-Y の繰り返し構造によって構成され、主に恒温動物である哺乳類では X および Y の位置には、Pro および同残基が水酸化された Hyp (ヒドロキシプロリン) を多く含む。これらはイミノ酸と呼ばれ、その構造からペプチド結合の回転に制限を与え、3 重らせん全体を堅固な構造にすると考えられている。本分子は実験条件下で規則的に自己集合し、原繊維を形成し、同繊維は 65nm の規則的な縞模様 (D band) を示す。一方で、これまで報告のある深海魚を含む魚類 I 型コラーゲンではイミノ酸の代わりにセリンが多く見られる傾向は知られるが、水温および水力との関連性の詳細は明らかではない。

第1章では、まずはじめに深度の異なる3種のソコダラ類 (*C. acrolepis*, *C. armatus* and *C. yaquinae*) の筋肉、および肝臓の一般成分、遊離アミノ酸組成、脂肪酸組成、組織観察を行った。結果、本3種の筋肉、および肝臓では浅海性のタラ類 (*G. chalcogrammus* and *G. macrocephalus*) と比べ、高濃度の Asp および高度不飽和脂肪酸を有することが明らかになった。

第2章では、様々な温度に生息する11種の魚類皮からI型の酸可溶性コラーゲン (ASC) を精製し、その特性の解析を行った。既報のデータとあわせた解析を行った結果、ASC の変性温度は魚類の生息温度に正に相関することが明らかになった。また、アミノ酸分析の結果から魚類 ASC において両温度はコラーゲン分子内のイミノ酸含量と正の相関を示し、セリン含量と負の相関を示した。また円二色性 (CD) を用いたスペクトル解析からも同様の温度と構造の相関を裏付ける結果が得られた。これらの一連の結果から変温動物であるコラーゲンの構造は生息温度への適応により変化し、イミノ酸含量を減少させ、同時にセリン含量を増加させることが示された。低水温に生息する魚種の同分子中の高セリン含量は分子に“柔軟性”を与え、低水温下においても熱エネルギー的に有利にはたらく可能性がある。

第3章では、シンカイヨロイダラのI型コラーゲン $\alpha$ 1-3サブユニットのcDNA配列の決定を行った。結果、全てのサブユニットの3重らせん領域内で極めて高頻度かつ散発的にセリン残基が確認され、その含量は既報の他魚種の配列データと比較して最も高い値であった。第2章同様に本種の皮から精製したASCのアミノ酸分析においても同結果を支持するデータが得られた。同分子の変性温度は16.6°Cと算出され、第2章で用いた全魚種と比しても非常に低い値を示した。一方で0-40MPaで加圧後のCDスペクトル解析の結果から、浅海性のスケトウダラASCに比して本種ASCは圧力に明らかな抵抗性を示すことが示された。また、加圧下での自己集合試験においても40MPa下ではスケトウダラASCは原繊維の形成が見られないものの、本種ASCにおいては原繊維が形成し、同繊維中に走査型電子顕微鏡でD bandの確認が出来た。加えて本原繊維の原子間力顕微鏡を用いたフォースカーブ解析から、その弾性率が陸上の哺乳類と比して明瞭に低いことが示された。これらからシンカイヨロイダラI型コラーゲンでは分子内に極めて多くのセリン残基を有することで低水温に適応するとともに、高圧環境への適応も果たすことが示唆された。

以上のように本研究では、一般に魚類のI型コラーゲン分子ではその三重らせん構造の繰り返し配列に含まれる、イミノ酸およびセリン含量がその生息水温への適応の鍵を握ることを示した。加えて、深海4000-6000mに生息するシンカイヨロイダラの同分子の解析からも同様のアミノ酸残基が水温に加えて圧力への適応にも大きく寄与する。本研究ではこの事実を一次構造から繊維までの階層的観点から明らかにした。これらの成果は、深海魚のみならず魚類コラーゲンの環境適応に関する基礎的知見として水族生化学・分子生物学分野において優れたものである。また、コラーゲンは食品および再生医療など応用面での価値も非常に高く、今回得られた知見は新たな素材の開発法に発展する可能性を示しており、将来的には実用的な視点からも非常に有用な知見を提示していると判断される。

なお、本研究で得たデータの一部は平成24年度日本水産学会中国・四国支部 優秀発表賞、日本水産学会創立85周年記念国際シンポジウム Best Student Presentation Award を受賞し、国際誌 *Journal of Food Biochemistry* 43(11)の表紙に採択されるなど国内外で高く評価されている。また2020年10月放送のNHKの「サイエンスゼロ」でもデータが紹介されるなど、一般向けのメディアにも貢献した。

本論文の公開審査会は、令和3年2月1日にリモートシステムを使用して開催され、論文発表とこれに関連する質疑応答が行われた。引き続き行われた学位論文審査委員会において本論文の内容について審査し、審査委員全員一致して本論文が博士(農学)の学位を授与するに値すると判定した。