

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 ハサン ムハマド メヘディ

Hasan Muhammad Mehedi 氏の提出論文 *Studies on the tissue distribution and structural profiles of fish myoglobins* (魚類ミオグロビンの組織分布および構造に関する研究) は魚類ミオグロビンの組織分布と構造を詳細に検討したものである。その概要を以下に示す。

魚類のミオグロビンおよびその特殊性に関する詳細なレビューの後に、第 1 章では 10 種の魚類のミオグロビン遺伝子をクローニングし、その塩基配列から得られた演繹アミノ酸配列を解析した。その結果、魚類ミオグロビンの分子量と等電点はそれぞれ 15.5 から 18.2 kDa および 6.51-9.50 と非常に多様性に富むことが明らかとなった。他の脊椎動物と比較したところ、ヘム結合ヒスチジン His60 と His89 はいずれの種においても保存され、その他にも Leu29, Phe30, Phe40, Phe43, Val64 などがよく保存されていた。1 アミノ酸残基の欠失がニジマスの F ヘリックスに、システイン残基の挿入が walking catfish の F ヘリックスと E-F ヘリックス間の 2 か所で起こっていた。魚類のミオグロビン間でのアミノ酸配列相同性は高いが、哺乳類とでは 31-41% と低かった。遺伝子系統樹解析から、魚類と哺乳類の間には大きな差が認められ、その生息環境や特殊な組織発現などに対する適応の結果であるものと推定された。

第 2 章では、ミオグロビンの 1 次構造と機能および分子安定性との関係を明らかにするために、3 種のサバ科魚類からミオグロビンを単離精製し、円二色性スペクトル解析による温度安定性解析を行った。222 nm ($[\theta]_{222}$) における molar ellipticity values は -22468 から -25084 と、 α ヘリックス構造が 65.3% から 72% を占めることが明らかとなった。それぞれのアミノ酸配列の相同性は高かったが、その温度安定性は silver trevally Mb > yellowtail Mb > greater amberjack Mb の順であった。一方、ミオグロビンの自動酸化速度

では, silver trevally Mb (0.27 h^{-1} or 0.39 h^{-1}) > yellowtail Mb (0.2 h^{-1} or 0.27 h^{-1}) > greater amberjack Mb (0.14 h^{-1} or 0.18 h^{-1})の順であった. これらの結果から, 熱安定性と自動酸化速度の間では必ずしも相関がみられないことが明らかとなった.

続いて, 第3章ではアミノ酸の欠失が認められたニジマスミオグロビンの性状を明らかにするために, リコンビナントニジマスミオグロビンを作製し, その性状を明らかにした. その結果得られたミオグロビンの α ヘリックス含量は36%であり, 4,4'-dithiodipyridineとの反応性から還元システインが存在することが明らかとなった. 過酸化水素との反応性からリコンビナントニジマスミオグロビンは活性酸素種消去能を有することが明らかとなった. 以上のことから, 魚類のミオグロビンの生理機能の一つとして活性酸素種消去能が挙げられた.

第4章では, ニジマス非筋肉組織におけるミオグロビン遺伝子およびタンパク質の分布を明らかにし, 非筋肉組織では生殖腺, 鰓, 胆管上皮, 脳などにミオグロビンの発現が認められることが明らかとなった. これらの結果から, ミオグロビンは, 従来の筋肉における酸素保持という機能以外の生理機能を果たすものと予測された. また, ニジマス脳ではニューログロビンがミオグロビンと共発現することが明らかとなり, 他のグロビンファミリータンパク質も重要な生理機能を果たすものと推定された. 最後に論文全体に関する考察を網羅的に行った.

以上の成果は, 魚類筋肉の色に大きく影響を及ぼすミオグロビンの生化学的・分子生物学的・組織化学的に詳細に明らかにしたもので, 基礎生物科学的知見の蓄積だけでなく, 産業上重要な知見を取りまとめたものであり, 審査委員一同は, 本論文が博士(農学)の学位論文として必要十分な条件を満たす, 価値あるものと判定した.