

# 論文審査の結果の要旨

氏名 杉山直幸

本論文は細胞毒性を有する二次代謝物を多量に蓄積する海綿動物クロイソカイメンが、その毒性に対して有する自己耐性に関与する新規タンパク質の性状について報告したものであり、序論、本論第1～5章、および本論の要約である結論の各章により構成されている。本論各章はさらに個々の報告内容に関しての序論、実験の部、および結果と考察の3項からなり、読者による追試と用いた化合物の同定がすべて可能となっている。

序論では本研究を開始するに至った背景と作業仮説、およびこれに基づき本研究の主題である新規タンパク質OABP2に関して、本論文提出者が修士課程研究で行なったオカダ酸との結合を指標とした単離精製と電気泳動上での同定の過程が述べられている。これにより本博士研究で得られた新規な知見の範囲が明確になっている。

本論第1章ではその序論でOABP2の部分アミノ酸配列が修士課程研究ですでに得られていた旨が述べられた後、これを踏まえて定法である逆転写／ポリメラーゼ連鎖反応（RT-PCR）による本タンパク質の遺伝子配列とこれに基づく全アミノ酸配列の決定を行なった過程の詳細が述べられている。続いての質量分析によるアミノ末端での翻訳後修飾の解明に関しての記述は、化学的手法ならではの成果であり、特に本分野において学位を授与されることが相応しい根拠となる部分である。

以下、第2章では本研究に用いた材料を採集した三崎臨海実験所近辺に混在するダイダイイソカイメンを同様に抽出した結果、オカダ酸、OABP2がともに検出されなかったことで後者がオカダ酸に対する自己耐性に関与することの生物学的根拠を得たことを述べている。続く第3章ではオカダ酸とOABP2の親和性の定量に関して行なったスキッチャード解析と、数種のオカダ酸誘導体およびオカダ酸と同様にタンパク質脱リン酸化酵素PP2Aをその毒性発現での細胞内標的とする他の二次代謝

物に対するOABP2の親和性に関して比較実験を行なった結果が述べられており、OABP2によるオカダ酸の認識はPP2Aとは大きく異なるという結論を得ている。続く第4章ではOABP2、およびこれとオカダ酸との複合体に関しての高次構造解析に向けて、大腸菌への組換え遺伝子導入による発現がなされたこと、第5章では光親和性標識によるOABP2でのオカダ酸結合部位が特定できたことが述べられている。

以上、本論文の研究内容は本分野での多くの研究者にとって長年の疑問であった生物活性の強い二次代謝物を恐らく自己防御に用いる海洋無脊椎動物のこれに対する自己耐性機構に関して、世界で初めてその分子論的根拠を示したものであり、この成果はさらに海底での付着生物間の棲み分け機構解明に繋がる潜在性をも有することで、化学生態学への画期的な貢献であると判断できる。なお、本研究の端緒である作業仮説は本論文提出者が学部卒業研究開始時に指導教官である橘によって提唱されたものであるが、材料採集を含めた以後の実験での計画立案と実施、および結果の解析と考察はすべて論文提出者が自ら行なったものであり、その寄与は十分に余りある。

よって、本論文提出者である杉山直幸は、博士（理学）の学位を授与される資格があるものと認める。