

論文審査の結果の要旨

氏名 葛西卓磨

本論文は5章からなる。第1章はイントロダクションであり、研究の意義、目的、先行研究などについてまとめられている。生体物質との相互作用や触媒活性などが未知であるタンパク質の立体構造解析をおこなうことにより、アミノ酸配列からは結論できなかった他の機能既知タンパク質との相同性や、タンパク質分子表面の物性、分子表面にあって保存されているアミノ酸残基が集合している部位などの情報が得られることから、表現型等はわかっているが相互作用や触媒活性のわかっていない BolA タンパク質について、立体構造解析をおこなって相互作用物質を類推あるいは絞り込みできるか調べた上で相互作用解析をおこなう旨と、この戦略の特長および BolA タンパク質に適用する妥当性が議論されている。BolA タンパク質はバクテリアの一部と真核生物に広く保存されたタンパク質であり、大腸菌の BolA は stationary phase やストレスによって発現誘導されること、強制発現すると菌が丸くなったり、他の遺伝子の転写量が増えたりすることなどが知られているが、相互作用や触媒活性はわかっていない。

第2章は立体構造解析であり、マウス BolA2、BolA1、大腸菌 BolA の3つのタンパク質について、NMR による立体構造解析の結果が示されている。BolA タンパク質は立体構造が未知であったことから、論文提出者がはじめて BolA タンパク質の立体構造を決定したことになる。立体構造の特徴が議論されており、特に 1/ 2 ループと呼ばれる部分は、タンパク質によって長さが大きく異なることが示されている。他のいくつかのタンパク質との立体構造類似性があるが、それぞれの活性に必要なアミノ酸残基が BolA タンパク質では保存されておらず、直接的な機能の関係はみられないとしている。

第3章は配列解析であり、BolA タンパク質をもつ生物種の調査、立体構造に基づく BolA タンパク質のマルチプルアラインメントと分子系統樹、グループ分けが説明されている。BolA タンパク質は5つのグループに分かれ、そのうちひとつは2つのサブグループに分かれるとされ、それぞれのアミノ酸配列の特徴が議論されている。表面保存残基は 1/ 2 ループ、HTH 様構造、C 末端の3ヶ所に集中していて、これらの部分のアミノ酸配列はグループごとに異なることから、これらの部分が相互作用等の機能と、その多様性を担っていると推定している。

第4章は機能解析であり、表面保存残基の特徴からタンパク質との相互作用能を推定し、

相互作用タンパク質を同定している。NMR や表面プラズモン共鳴法 (SPR) により、大腸菌 BolA に対しては PhoL、YpeA、Grx4、パラログである大腸菌 YrbA に対しては Grx4 との相互作用が示されている。また、BolA や YrbA と Grx4、BolA と YpeA の相互作用部位が、NMR や変異体による SPR により決定されている。また、大腸菌の形態変化活性についても、変異体による活性部位の解析が行われている。

第 5 章は総合討論であり、第 1 章で記された研究戦略に対する BolA タンパク質の場合の結果が示され、立体構造上の表面保存残基の配置、BolA タンパク質が 3 ヶ所の保存部位を入れ替えながら進化してきたというモデル、相互作用タンパク質から推定される生物学的な役割、タンパク質間相互作用とアミノ酸配列の関係について議論されている。BolA タンパク質は 3 ヶ所の機能部位にそれぞれ特徴的なアミノ酸残基をもつグループにわけられ、HTH 様構造は Grx4 などのモノチオール型グルタレドキシンの相互作用に、1/2 ループ、HTH 様構造、C 末端などのアミノ酸配列の違いはグループごとに異なるタンパク質との相互作用に関わっていると結論付けている。また、先行研究と比較した当研究の成果については、これまでの 2 次構造予測に基づく機能の推定が誤っていたこと、行なわれていなかったグループ分けを明確にできたこと、BolA タンパク質でははじめて相互作用因子が明らかになったことが挙げられている。

なお、本論文の第 2 章の一部は、理化学研究所の井上真博士、小柴生造博士、矢吹孝博士、青木雅昭博士、布川絵未氏、関英子氏、松田貴意氏、松田夏子氏、鞆康子氏、白水美香子博士、寺田貴帆博士、大林尚美氏、濱名宏章氏、新屋直子氏、龍口文子氏、安田聡子氏、好田真由美氏、廣田洋博士、松尾洋博士、谷一寿氏、鈴木治和博士、荒川貴博博士、カルニンチピエロ博士、河合純博士、林崎良英博士、木川隆則博士、および東京大学の横山茂之教授との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士 (理学) の学位を授与できると認める。