

# 論文審査の結果の要旨

氏名 チェン チウンペエン

本論文は7章からなる。第1章はイントロダクションであり、まず細菌べん毛のバイオナノマシンとしての概要、タイプ III 分泌装置との関係について述べられている。更にべん毛繊維蛋白質 flagellin の構造や、この蛋白質が作られてから輸送装置によってアンフォールディングしチューブ状の繊維内を移動して繊維末端で折り畳む過程に関して、これまでの知見について解説している。章の最後ではこの論文の目的とそれを達成するためになぜシミュレーションを用いるかが述べられている。

蛋白質 flagellin は主に4つのドメイン、D0・D1・D2・D3 から構成されている。D0 および D1 は分子間で相互作用しべん毛繊維のコアをなしている。D2 (更に D2a と D2b に分けられる) および D3 は溶液中に突き出しており、種によって配列が大きくことなっているので Hyper Variable Region (HVR) と呼ばれる部位を含んでいる。第2章ではアミノ酸配列解析の結果に基づいて、HVR について情報生物学的な考察を行っている。

第3章は、研究に用いた理論的手法について述べられている。この論文で用いられた主な手法である分子動力学 (MD) シミュレーションの概要が記述され、更に外力を用いた MD シミュレーションと原子間力顕微鏡 (AFM) との比較、高温 MD シミュレーションによる蛋白質折り畳み研究について考察されている。

第4章では、MD シミュレーションによって明らかになった flagellin の単量体構造について述べられている。これまで flagellin 分子全体の立体構造は、繊維状態でしか決定されていない。この章では繊維構造を初期構造とし、単量体を溶液中に溶かした状態でシミュレーションを行うことで、実験的には解かれていない原子レベルでの単量体構造を明らかにしている。具体的には、D0 部位にある2つのヘリックスが部分的に壊れていることが他の部位はほぼ構造が保たれていることが明らかになった。またこの章で示されたアミノ酸残基間のコンタクトマップは、後の章でアンフォールディング過程での蛋白質の状態を定量化するための参照情報として用いられている。

第5章では、外力を用いた MD シミュレーションによって flagellin を強制的にアンフォールディングさせることで、細胞質で作られた flagellin がチューブ状繊維の中を輸送される際の形状に関して考察している。具体的には、輸送の際に flagellin の N 末端と C 末端が遠距離になるワイヤーモデルと、両末端が近距離になるヘヤピンモデルについて、どちらがより適切であるか詳細な検証を行っている。これらの2つのモデルでは、 $\beta$ シート構造の解消に必要な力の強さが大きく違っており、比較的小さな力によって構造をアンフォールディングすることができるワイヤーモデルのほうがより可能性が高いと結論付けられた。

第6章では、チューブ内での輸送後に起こる flagellin の巻き戻り過程について述べられている。flagellin は繊維末端にある繊維と繊維キャップの間隙にあるチェンバーで巻き戻り、繊維末端に会合すると考えられている。高温 MD シミュレーションにおいて

観察されるアンフォールディング過程は、これまでのさまざまな研究から巻き戻りの逆順であることが示されている。ここでは参照データとなる300KでのMDシミュレーションに加えて、400、500、600Kでの高温MDシミュレーションを行い、アンフォールディングに関する詳細な解析が行われている。その結果、繊維のコアを形成するDf1(D1の一部)とD2bにおいて比較的速く構造がアンフォールディングするのに対し、 $\beta$ 構造を多く含むD2aとD3はより安定であることが示された。またD2aとD3はより主に $\beta$ 構造からなるフォールディングコアを持つことが明らかになった。突然変異体解析との比較からはこれらのコアの存在が繊維の安定性に大きく寄与していることが示唆された。また、熱変性状態での各ドメインの大きさの解析からは、繊維末端のチェンバーのサイズはflagellin全体が一度に折り畳むには十分ではないが、D2とD3のペアとD1とD0のペアがそれぞれ個別に折り畳むには十分な大きさであることが示された。

第7章は、論文全体の結論と今後の展望が述べられている。結論としては、ワイヤーモデルに近い形でflagellinが輸送され、繊維の先端に到着するとまずD2・D3ドメインが折り畳み、D0・D1ドメインがそのあとで折り畳むとのモデルが強く示唆された。

本論文で報告された一連の成果は、べん毛繊維というナノマシンの構造構築メカニズムの理解につながるものであり、得られた結果は十分な新規性を有しこの分野の研究の進展に寄与するものと判断する。なお、本論文第4-6章は、北尾彰朗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(科学)の学位を授与できると認める。