

論文審査の結果の要旨

氏名 高橋 一暢

本論文は4章からなる。第1章は序論であり、蛋白質のフォールディングと分子シャペロン、特に大腸菌のシャペロニン GroEL とコシャペロニン GroES に関して、これまで明らかになっている立体構造、機能発現の仕組み、アロステリック転移について述べられている。

第2章は、実験に用いた試料に関して、詳しい説明が述べられている。

第3章は、基質タンパク質存在下における GroEL-GroES 複合体の構造についての研究成果が述べられている。ここでは X 線小角散乱を用いて、生理的活性条件下において基質蛋白質存在下での GroEL-GroES 複合体の構造を明らかにしている。具体的にはヌクレオチド存在下、ATP と ADP が存在する条件、および ATP と BeFx が存在する条件で X 線の散乱パターンを解析し、慣性半径・分子内最大距離・重量平均分子量を決定することでどのような形状の複合体が形成されるかを解析した。この結果、ヌクレオチド存在下では複合体が形成されないこと、ATP と ADP が存在する条件では弾丸型複合体が形成されること、および ATP と BeFx が存在する条件でフットボール型複合体が形成されることが解明された。既存の研究と比較して、これまであいまいだった生理的条件下での GroEL-GroES の形状を明らかにした点が新しく、反応サイクルを解明するための重要な情報を与えた研究として意義がある。

第4章は、GroEL の新規ヌクレオチド結合部位の探索について述べられている。GroEL は ATP の結合に伴ってアロステリック転移を起こすが、アロステリ

ック転移の速度定数の ATP 濃度依存性は、単純なシグモイドでは表せない複雑なものであることが明らかになった。このことから申請者は、ATP 結合部位が複数あるとの仮説を立て、これを下記のように立証した。具体的には、まず ADP の濃度が高い時に ADP が第 2 のヌクレオチド結合部位に結合していることが示唆された。この結合部位が立体構造上どこにあるのか明らかにするために ADP の代わりに $8N_3$ -ADP を用い、GroEL のどの部位に ADP が結合するかを同定した。この結果、Typ360 の付近が結合部位であることが示された。この結果は GroEL にこれまで知られていなかった第 2 のヌクレオチド結合部位があることを示したものとして新しく、さらにその位置をほぼ特定したものとして意義がある。

なお、本論文第 3 章は、伊野部智由、榎互介、榎佐和子、鎌形清人、廉岡昭雄、新井宗仁、桑島邦博との共同研究であり、第 4 章は桑島邦博との共同研究であるが、それぞれ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。