

審査結果の要旨

氏名 松本 昌彦

計算科学を用いた転移交差飽和法に関する理論的研究と題する本論文は、NMR法の1つである転移交差飽和(TCS)法について、理論的記述を確立し、シミュレーションおよび実験によりTCS法の適用可能性を解析した成果を述べたものである。本論文は4つの章からなり、第1章において序論を、第2章においてTCS法の理論的記述を、第3章においては実験の材料および方法を、第4章においてシミュレーションによりTCS法の適用可能性を解析し、実験による検証を加えている。

第2章においては、TCS法の理論的記述を述べている。まず、TCS法の試料中のisotopomerを考慮する重要性について述べている。TCS法では重水素化したリガンドタンパク質とプロトン濃度が低い溶媒を用いることから、試料中のリガンドタンパク質のプロトンの空間的分布はisotopomerごとに大きく異なり、そのためTCS法を理論的に記述するためにはisotopomerごとのスピンの緩和を考慮しなくてはならないことを述べている。つづいて、弱く相互作用するリガンドとレセプターの系にラジオ波を照射した場合のプロトンスピンの時間変化を表す式からTCS法におけるプロトンスピンの時間変化を表す式を導出し、最後にすべてのisotopomerに由来するシグナルのアンサンブル平均としてTCS法で観測されるシグナル強度を表す式を導出している。ここでは、通常TCS法に用いられるレセプター分子の分子量が大きいため、レセプターのプロトンスピンはラジオ波照射に伴い速やかに飽和されることが考慮されている。また、溶媒のプロトン濃度が非常に低く、リガンド分子内のプロトンが実質的に孤立した条件でのTCS法の理論的記述も導出している。

第4章においては、TCS法の理論的記述に基づいたシミュレーションを用いて、TCS法に関与する物理パラメータの影響を解析した結果と、ubiquitinとyeast ubiquitin hydrolase(YUH)の相互作用系を用いたTCS法の実験結果について述べている。シミュレーションには3個のプロトンから成るリガンドと13³個のプロトンから成るレセプターのモデルスピン系を用いている。まず、溶媒のプロトン濃度がTCS法に及ぼす影響について解析している。レセプターの回転相関時間が10 ns, 100 ns, 1000 nsの条件において溶媒のプロトン濃度を変えてシミュレーションを行い、その結果、どのレセプターの回転相関時間でも溶媒のプロトン濃度が10~30%がTCS実験に適切であると結論している。つづいて、リガンド結合飽和度、解離速度定数、レセプターの回転相関時間がTCS法に及ぼす影響に

について解析している。その結果、TCS 法はレセプターの回転相関時間が 10 ns から 1000 ns の範囲で適用可能であること、また、レセプターの回転相関時間によって TCS 法に適切なリガンド結合飽和度と解離速度定数の範囲が異なることが明らかにされている。

次に、TCS 法の飽和効率について、リガンドが実際にレセプターと結合している時間に着目して考察を加えている。ここでは、リガンドが結合状態にある平均時間、および、個々のリガンド分子が結合状態にある時間をシミュレーションにより算出してその分布を求め、リガンド結合飽和度および解離速度定数が適切な範囲にない場合に飽和効率が非常に低くなる現象を説明している。

さらに、ubiquitin と YUH の相互作用系を用いて、シミュレーション結果を検証している。実験には、相互作用が強い ubiquitin-YUH(C90S) の系と相互作用が弱い ubiquitin-YUH(wt) の系を用い、いずれの場合も、実験条件を模した条件でのモデルスピンをういたシミュレーションで同等の結果が得られたことから、シミュレーションを参考とした TCS 実験条件の設定が可能であると結論している。

以上、本研究の成果は、創薬の重要なターゲットである巨大分子とタンパク質の弱い相互作用の系において、相互作用部位および構造の解明に大きく貢献するものであり、これを行った学位申請者は博士（薬学）の称号を得るにふさわしいと判断した。