

論文審査の結果の要旨

氏名 石井 大輔

本論文は、毛髪に由来するケラチンであるトリコサイトケラチンの超分子高次構造形成制御を目的として、トリコサイトケラチン間の相互作用強度を *in vitro* で解析し、また解析結果を既知の学術知見と複合化させることでその相互作用機序を定量的に議論できるプラットフォームを構築することを目指した。

本論文は全4章から成り、第1章は本論文の序論である。

第2章では、大腸菌発現系を用いてトリコサイトケラチン K35 および K85 それぞれを組換え蛋白質として調製し、実験試料に資する純度向上を検討している。これらケラチンはシステインを5%以上含有するために精製過程での望まない凝集や沈殿が懸念された。以上のような背景を踏まえ、嫌気環境を徹底した条件下で分子ふるい効果あるいは等電点を応用した精製を実施し、その結果として凝集や沈殿を生じさせることなく標的蛋白質が精製可能であることを示唆する結果を示している。

第3章では、第2章で調製した蛋白質試料を用いて、等温熱滴定法を用いた相互作用解析を実施し、かつ透過型電子顕微鏡を用いたケラチン線維複合体の観察を実施している。可溶化剤として尿素を種々濃度で配合した複数の溶媒を調製し、段階透析法を用いてそれら溶媒中にケラチンを溶解させて等温熱滴定を実施して相互作用エンタルピーを獲得し、結合定数を算出した。その結果、高次構造形成の各過程間で相互作用強度に顕著な差異が存在することが明らかとなり、かつ特徴的な相互作用様式を有する過程が存在する可能性を強く示唆した。また、電子顕微鏡を用いた線維状複合体の観察を通じて、線維状複合体形成すなわち線維伸長を促進する塩の添加濃度に応じて観察される線維の長さに明瞭な差異が存在し、それら観察結果と対応する条件での熱滴定結果とが整合よく議論された。以上をまとめると、トリコサイトケラチンの超分子線維形成はその中途の過程での特徴的な相互作用が結合定数の観点からは最も強固であり、以降の伸長に

関わる過程は比較的自発的に実施されるものと示唆された。

以上の結果について、第4章で総括している。

以上、本研究では組換え蛋白質を用いた生化学的手法と嫌気環境の徹底という云わば有機化学的な発想を通じて、ケラチン蛋白質の線維形成過程における親和性や相互作用強度について多くの新規な知見を与えた。これらの成果は、蛋白質超分子構造体をデザインする上で重要となる蛋白質相互作用の制御戦略の構築へ貢献することが期待されるとともに、共有結合性の会合や凝集が強く懸念される蛋白質試料の安定的なハンドリング技術の開発にも貢献することが期待されることから、高く評価できる。

従って博士（生命科学）の学位を授与できると認める。