

論文審査の結果の要旨

氏名 田中良樹

本論文は5章からなる。序章はイントロダクションにあたり、本論文中で扱う膜タンパク質輸送体についての概略および論文の概要、研究目的等が記述されている。第1章は多剤排出輸送体 MATE の結晶構造解析について述べられている。大腸菌組換えタンパク質として発現させたサンプルについて結晶化を試みていた。その結果、好熱性古細菌 *Pyrococcus furiosus* 由来の MATE において、モノオレイン LCP 法という結晶化方法を用いることで、構造決定に耐え得る結晶が得られ、セレンメチオニン置換体を用いた単波長異常分散(SAD)法による位相決定を行ない、最終的に最高で分解能 2.4 Å で全長構造の決定していた。また、阻害剤ペプチドの合成を共同研究で行い、結合が確認された複数の候補の中から 3 種類の環状ペプチドについて複合体構造を明らかにしていた。全体構造は細胞外側に開いた outward-facing 構造をとっており、3 つの環状ペプチドはそれぞれについても複合体結晶構造を明らかにしていた。この結果は、ペプチド創薬における知見として意義あるものと評価できる。第2章は高度好熱性細菌 *Thermus thermophilus* 由来のマグネシウムイオン輸送体 MgtE 細胞質ドメインの結晶構造解析、および全長構造との組み合わせによって得られた知見について述べられている。MgtE 細胞質ドメインの構造を、マグネシウムイオン存在下とマグネシウムイオン非存在下のそれぞれについて、分解能 2.3 Å, 3.9 Å で決定し、その構造変化を明らかにしていた。また、その変化が全長構造に与える影響について考察していた。第3章は二価金属イオン輸送体バクテリアホモログ bACDP について述べられている。全長での大量発現が確認されていた生物種（好熱性細菌 *Geobacillus kaustophilus*）の bACDP に関して細胞質ドメイン可溶性領域を予測し、複数の長さの発現系を作製し、結晶化を試みた。その結果、セレンメチオニン置換体 bACDP の 213 から 433 アミノ酸残基の発現系において、良質な結晶の作製に成功した。MAD 法による位相決定を行い、ATP 複合体構造を分解能 2.6 Å で決定していた。また、構造から ATP の認識に重要と予測されたアミノ酸に点変異を導入した系についても結晶化を行ない、分解能 2.85 Å で変異体の ATP 非結合状態における構造を決定した。構造を比較したところ、ATP の結合状態に関わらず同じ細胞質ドメインの構造をとっていることが示された。また、等温滴定カロリーメトリー (isothermal titration calorimetry, ITC) を用いて、全長タンパク質が ATP と強く結合することを明らかにしていた。終章には論文全体の総括が記述されている。

なお、本論文第2章は、服部素之との共同研究であるが、論文提出者が主体となって、MgtE 細胞質ドメインの分析を行なったもので、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ものと認める。