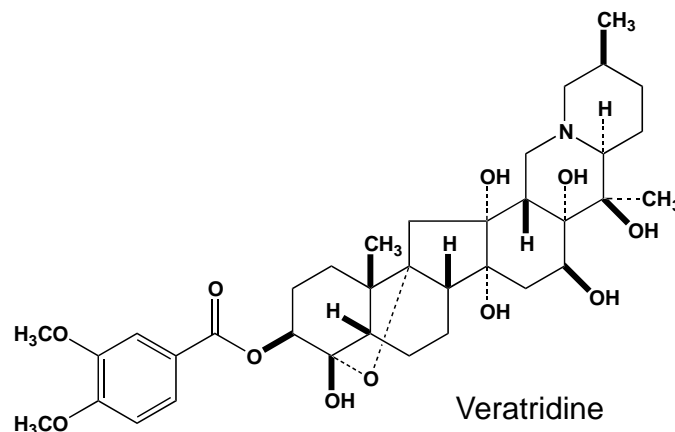


論文審査の結果の要旨

氏名 吉中 藍

本論文は全5章からなり、第1章の序論では背景として本研究の主題となる電位作動性ナトリウムチャンネルタンパク質とそこに結合し活性化または抑制することが知られる天然由来の低分子有機化合物が紹介されている。次にこれらの相互作用に関して脂質二重膜に結合したチャンネルタンパク質と有機低分子との結合様式を直接観測することでの困難さと、この解決を目指した本研究での指針が記述され、本研究の位置付けと意義が明確になっている。本研究で用いたユリ科植物由来の神経毒であるベラトリジンの化学構造式を以下に示す。



第2章では上記ナトリウムチャンネルとベラトリジンの相互作用に関してこれまでに報じられた前者の遺伝子操作（点変異）による実験結果に基づき 24 回膜貫通構造のうち一つの膜貫通ヘリックス構造（D4S6）に着目し、このモデルペプチド（20～26 アミノ酸残基）を化学合成し溶液中でのベラトリジンとの相互作用を ^1H NMR（水素核磁気共鳴）により調べた経緯が述べられている。溶媒にはペプチドのヘリックス構造を促進する 50%トリフルオロエタノール水溶液を用いてアミド結合に関与する窒素に結合した水素核をすべて帰属しヘリックス構造を確認した上で、ベラトリジンとの相互認識を化学シフト擾動により観測した結果、双方の疎水性構造部位で結合していることを示している。この結果はすでに点変位実験により報告されている結果と概ね合致するが、ベラトリジンのアシル基（上記構造式の左部分）を書くことで毒性を示さない天然物であるベラセビンとも同様の結合が観測され、毒性の発現にはこのアシ

ル基と D4S6 近傍のヘリックス構造との相互作用が関与している可能性を提唱している。これはこれまでに報告のない新しい知見である。

第3章では前章で用いたモデルペプチドを脂質二重膜に再構成する際の条件検討が詳細に述べられており、最適化した再構成条件により得られたものに関して、重水素化したリン脂質とペプチドとの固体NMRによる磁化移動の実験データと計算化学的シミュレーションによりペプチドが脂質二重膜を一回貫通している構造を取っていることを示している。次いで前章と同様にベラトリジンと再構成ペプチドとの固体NMRによる化学シフト擾動による二重膜中での相互認識の観測を行ったところ、溶液中と同様の結果を得たことが述べられている。以上第2章、3章の実験内容と結果に関しては各章に詳細に記述されており、追試可能となっている。

第4章では以上の研究結果を踏まえた結論と、本研究手法により明らかにされるべき将来展望が述べられており、第5章は本論文での引用文献がリストアップされている。

以上、本論文の研究内容は従来困難であった脂質二重膜中でのタンパク質と低分子化合物との複合体に関する NMR による化学構造解析に関して、ここでの問題を克服するための手段を示唆するとともに、今後の本分野での問題解決における指針を示しているとの判断が審査委員全員の賛同により認められた。

なお、本研究のうち第2章に関しては当初原田雅典、山垣亮との共同研究により遂行され、第3章のうち固体 NMR 実験の部分に関しては藤原敏道、池田啓介、および江川文子（以上大阪大学蛋白質研究所）との共同研究であるが、本論文に記された実験の立案と実施、およびこれらの結果の解析と考察は論文提出者のものであり、その寄与は十分であると判断できる。

従って、本論文提出者である吉中 藍は、博士（理学）の学位を授与できるものと認める。