

論文審査の結果の要旨

氏名 樋口高志

本論文は4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章は糖輸送体 PTS の結晶化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。結晶化に適する性質をもったタンパク質を探索するため、GFP-FSEC 法というスクリーニング法を用いている。これにより 45 種のタンパク質について発現量、単分散性、安定性を評価し、結晶化のターゲットを4種にまで絞りこんでいる。また、これら4種全てのタンパク質において結晶が得られている。結晶化においては界面活性剤の検討やコンストラクトの改変、結晶の脱水処理、Fab や環状ペプチドなどのバインダーとの共結晶化、モノオレイン LCP 法という結晶化方法などを組み合わせて用いることにより、結晶の良質化を行っている。その結果、大腸菌由来マンニトール特異的 PTS Enzyme IIC ドメインの結晶を用いた X 線回折実験によって最大分解能 2.5 Å の反射像を得ることに成功している。

第2章は二価金属イオン排出体 CDF 輸送体細胞質ドメインの構造解析について述べられている。*Thermotoga maritima* 由来 CDF 細胞質ドメインに相当すると考えられる 206 から 306 番目の残基 (TM0876₂₀₆₋₃₀₆) を、大腸菌を用いて発現させ、結晶構造解析の対象としている。セレノメチオニン置換体を調製し、多波長異常分散法によって位相決定を行い、分解能 2.84 Å で構造を決定している。決定された構造は基質である亜鉛イオンを含まない、亜鉛非結合型の構造であった。結晶学的対称性で位置づけられるプロトマーとの二量体形成モデルを作成し、膜貫通ドメイン近傍で構造がフリップすることを確認しており、これによって以前までに提唱されている二つの輸送制御モデルのうち的一方を支持すると結論付けている。

なお、本論文第2章は、服部素之、田中良樹との共同研究であるが、論文提出者が主体となって、CDF 輸送体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。