

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)	氏名	橋本 愛美
学位授与の要件	学位規則第4条第1・②項該当		
論文題目 タンパク質の構造と複合体形成および機能調節に関する研究 (Research of structural adequacy of proteins in functional complex)			
論文審査担当者			
主 査	教 授	楯 真一	
審査委員	教 授	泉 俊輔	
審査委員	教 授	中田 聡	
〔論文審査の要旨〕			
<p>タンパク質の多くは単独の分子としては機能せず、複数のタンパク質からなる複合体として始めて生物学的な機能をもつ。研究の困難さから、複合体を形成するタンパク質の構造と機能制御の関係については分子科学的に十分に理解されていない部分が多い。</p> <p>橋本愛美は、サルモネラ菌が水中での遊泳に必要な推進力を得るためのべん毛によるトルク発生を担うモータータンパク質を研究対象とした。べん毛モータータンパク質は、約30種類のタンパク質で構成される。彼女は、多くの構成タンパク質の中で、トルク発生に直接関わる FliG タンパク質の構造機能解析を行った。まず、系等的なアミノ酸変異体を約100種類作成して機能解析に重要な超温度感受性変異体(Hyper-TS mutants)を複数発見した。この変異体を用いて、FliG がべん毛モーターでトルクを発生させる機構を解析した。その結果、FliG タンパク質構造表面上にある疎水性コアが、モーター基部を支える MotA タンパク質と特異的に結合し、この相互作用を通してべん毛は回転に必要なトルクを生み出すことが示された。</p> <p>橋本は、次にべん毛モータータンパク質の基部の構造特性解析へと研究を展開した。べん毛は、モーター部で発生するトルクを水中での推進力に変換するために、約90度折れ曲がったフック部をもつ。従来までは、このフック部には構造柔軟性がないとされていた。橋本は、べん毛を基盤に固定して、サルモネラ菌自体の回転を顕微鏡下で観測する方法(テザード法)により、フックの構造柔軟性について検証した。橋本は、基盤に固定された菌体の回転を注意深く観測したところ、フックが堅い構造であるならば起こりえない楕円軌道を描いて回転する菌体が存在することを発見した。さらにフックの長さが異なる変異体を用いて解析を行うと、楕円軌道を描く傾向がさらに強まった。また、菌体自体が間歇的に回転するものも観測され、フック構造は従来考えられていたように堅い構造体ではなく、明らかな構造柔軟性があることが明らかになった。このことは、べん毛の定量的な動作解析に補正を加える必要を示すものであり、定量的なべん毛の機能解析研究を展開する上で重要な意味を持つ。</p>			

橋本は、次にクロマチンリモデリングに係わる複合体タンパク質 FACT を対象として NMR を用いた構造機能解析研究を行った。この研究では、FACT のヌクレオソーム結合ドメインに注目した。安定な立体構造を持たない天然変性領域である FACT のヌクレオソーム結合ドメインが細胞内で多重リン酸化修飾を受けることは研究室で既に報告していた。橋本は、この成果をもとにどの部位がリン酸化修飾を受け、それがどのようにタンパク質複合体内の分子間相互作用を変化させるかを NMR で解析した。リン酸化タンパク質の大量調製法を確立することにより、リン酸化により FACT ヌクレオソーム結合ドメイン内の相互作用が強化され、その結果自己抑制型複合体を形成しヌクレオソーム結合能が低下するという制御機構を見いだした。溶液中での AFM 測定により、ドメインレベルでの解析で推定した制御機構に従って、FACT 全長によるヌクレオソーム結合制御が行われていることを明らかにした。この研究は、ヌクレオソーム構造制御という細胞内反応が、多重リン酸化による超感度応答制御に繋がることを示すその後の研究の基盤となる、重要な研究成果である。

上記の研究成果は、橋本が第一著者として 3 編の論文を報告しており、さらに関連する研究の共同研究者として共著論文 3 編を報告している。

上記の研究は、いずれもタンパク質複合体の構造機能相関に関する重要な知見を与える成果であり、本論文の著者である橋本愛美は博士（理学）の学位を授与されるに十分な資格があると認められる。