

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	蛋白質結晶の分子設計による超分子構造体の創製
Title(English)	
著者(和文)	根岸走
Author(English)	Hashiru Negishi
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第10917号, 授与年月日:2018年6月30日, 学位の種別:課程博士, 審査員:上野 隆史,櫻井 実,丸山 厚,小島 英理,金原 数
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第10917号, Conferred date:2018/6/30, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

論文審査の要旨及び審査員

報告番号	甲第	号	学位申請者氏名	根岸 走	
論文審査 審査員		氏名	職名	氏名	職名
	主査	上野 隆史	教授	金原 数	教授
	審査員	櫻井 実	教授		
		丸山 厚	教授		
小島 英理		教授			

論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は、「蛋白質結晶の分子設計による超分子構造体の創製」と題し、以下の5章より構成されている。

第1章「緒言」では、蛋白質超分子構造体の構築手法や蛋白質結晶の機能性材料としての利用について概説し、本研究の目的と意義についてまとめている。

第2章「リン酸化酵素内包多角体結晶の細胞内合成」では、多角体と呼ばれる昆虫細胞内で結晶化する蛋白質結晶を利用し、細胞内で多角体結晶へ酵素を内包すると同時に、結晶溶解による活性を維持したまま内包酵素を放出することを達成している。多角体結晶は、乾燥、凍結、酸などに対して結晶性を維持する高い安定性を有するが、pH 10以上の塩基性溶液中では溶解する。また、H1ヘリックスと呼ばれるタグペプチドを融合した外来蛋白質は、多角体蛋白質と昆虫細胞内で共発現すると外来蛋白質が内包された多角体結晶が細胞内で合成される。野生型の多角体結晶は、pH 10以上の塩基性溶液にしか溶解しないため、結晶溶解により放出される酵素がほとんど失活する問題点がある。そこで、野生型の多角体結晶より低いpHで溶解可能な変異体結晶を設計している。変異体結晶は、野生型の多角体結晶では溶解できないpH 8.5で溶解し、内包酵素は活性を維持したまま結晶から放出された。また、酵素を内包した変異体結晶を1週間乾燥保存し、酵素活性を評価した結果、乾燥による酵素の著しい活性低下を防いでいる。以上により、細胞内で酵素を内包した結晶が自発的に合成されるこのシステムが、酵素保存材料として有用であることを示している。

第3章「多角体結晶を利用した超分子かご型構造体の構築」では、多角体結晶を利用し、結晶内特有な3量体からなる超分子かご型構造体を結晶溶解後も溶液中で保持させ、蛋白質超分子構造体の新たな構築手法を確立している。多角体結晶内の単量体同士をジスルフィド結合により架橋化し、かご型構造体を安定化することで、結晶溶解後も溶液中でかご型構造体を保持させている。初めに、多角体結晶内の単量体分子界面ヘシステインを導入した変異体を設計し、昆虫細胞内で結晶化させている。続いて、変異体結晶を酸化し、結晶内ジスルフィド結合を形成させた後、塩基性溶液で溶解させることでかご型構造体を溶液中へ切り出すことに成功している。これらの結果は、数万種類に及ぶ蛋白質結晶から多種多様な超分子構造体が構築できることを示唆している。

第4章「TbCatB結晶を利用したフィラメント構造体の構築」では、第3章で確立した手法を他の蛋白質結晶へ適用し、フィラメント構造体を構築している。昆虫細胞内で結晶化する*Trypanosoma brucei* cysteine protease cathepsin B (TbCatB)を利用し、TbCatB結晶内に存在する特有のフィラメント構造体の構築を試みている。そのために、結晶内の単量体分子界面ヘシステインを導入した変異体を設計し、昆虫細胞内で結晶化させている。変異体結晶は、導入したシステインが自発的にジスルフィド結合を形成し、酸化処理をしなくても単量体同士が架橋化されており、変異体結晶を溶解するだけでフィラメント構造を構築することに成功している。

第5章「総括」では、第2章から第4章までの成果とその意義をまとめ、最後に今後の展望について述べられている。

以上を要するに、本論文は、細胞内蛋白質結晶を利用した機能性バイオ材料の創製に関する多くの成果を示し、新材料の開発や発展に大きく貢献する知見を得たものであり、工学上貢献するところが大きい、よって本論文は博士(工学)の学位論文として十分に価値があると認められる。