T2R2 東京科学大学 リサーチリポジトリ
Science Tokyo Research Repository

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	
Title(English)	Development of self-assembling peptide tags for studying intracellular protein supramolecules
著者(和文)	橋本匡浩
Author(English)	Masahiro Hashimoto
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12750号, 授与年月日:2024年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:三原 久和,丸山 厚,田口 英樹,神谷 真子,堤 浩
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12750号, Conferred date:2024/3/26, 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

Powered by T2R2 (Science Tokyo Research Repository)

（博士課程）

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		橋本 匡浩	
論文審査 審 査 員		氏　名	職　名		氏　名	職　名
	主査	三原 久和	教授	審査員	堤　　浩	准教授
	審査員	丸山 厚	教授			
		田口 英樹	教授			
		神谷 真子	教授			

論文審査の要旨（2000 字程度）

本論文は「Development of self-assembling peptide tags for studying intracellular protein supramolecules」と題し、英語で書かれ、6 章より構成されている。
第１章「General introduction」では、細胞内のタンパク質超分子に関して構造形成や機能発現のメカニズムを調べるためにはタンパク質を細胞内で人工的に集積化する技術が重要であることを解説し、従来はタンパク質工学をベースとした技術が盛んに開発されていたことを述べた上で、ペプチドのサイズの小ささやデザインの柔軟性の高さから、タンパク質の人工集積化が可能なペプチドタグが有用であると記述している。そのために本研究では先行研究で開発された自己集合性 Y15 ペプチドタグを基軸として、細胞内でタンパク質超分子を人工構築して調べる様々な技術を開発し、タンパク質超分子に関する新たな知見を得ることが本研究の目的であると述べている。
第２章「Guide-tag system for regulating bait protein enrichment within Y15-based artificial granules and evaluation of client protein enrichment」では、細胞内でタンパク質のクラスター内への分配係数を定量的に制御できる技術の開発およびクラスター形成を伴うタンパク質間相互作用の解析について述べている。本技術は、標的タンパク質に鎖長の異なる Yn ペプチドタグを融合し、分配係数の異なるタンパク質クラスターを細胞内に人工構築することで、下流のクライアントタンパク質がどのようにクラスターに濃縮されるかを詳細に調べることができると論じている。この技術を用いて、Nck1 クラスターと N-WASP との相互作用および Grb2 クラスターと SOS1 との相互作用を解析し、タンパク質ペアによってクライアントタンパク質の濃縮の仕方やクラスター内部での流動性が異なることを明らかにしている。
第３章「Proximity labeling for identification of endogenous proteins recruited into bait protein decorated artificial granules」では、Y15 ペプチドタグを用いて人工構築したクラスターに自発的に濃縮した細胞内在性のクライアントタンパク質を同定する技術の開発について述べている。この技術を用いて、人工構築した Nck1 クラスターに濃縮したタンパク質を解析し、Nck1 との相互作用が既知なクライアントタンパク質が同定されたことから本技術の妥当性を示し、Nck1 との相互作用が未知なタンパク質も同定されたことから未解明の生命現象の解明への応用可能性があることを述べている。
第４章「Construction of artificial liquid droplets in mammalian cells by tagging with designed YK peptide」では、細胞内で流動性のある相分離液滴の人工構築が可能な YK ペプチドタグの開発について述べている。化学合成した YK ペプチドや、発現・精製した YK ペプチド融合タンパク質を用いて YK ペプチドの自己集合メカニズムについて調べており、ATP など細胞内に存在するポリアニオンによって YK ペプチド同士が架橋され、自己集合が促進されることを明らかにしている。
第５章「Distinguishing droplet-driving proteins from others via YK peptide tagging」では、開発した YK ペプチドタグが、細胞内での相分離液滴形成のポテンシャル評価に応用できることについて述べている。この特徴を用いて、コシャペロン HOP が細胞内で液滴形成することを見出し、その流動性が相互作用パートナーである Hsp70 や Hsp90 によって制御されることを明らかにしている。
第６章「Conclusion and future directions」では、本論文の結論を述べ、開発した技術の有用性や応用可能性、自己集合性ペプチドタグの発展性について述べ、今後の研究展開について論じている。
　以上を要するに、本論文は、自己集合性ペプチドタグを用いて細胞内のタンパク質超分子を人工構築して調べる方法を確立し、自己集合性ペプチドの細胞内での利用可能性の高さを示したものであり、工学上ならびに工業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な価値があるものと認められる。

注意：「論文審査の要旨及び審査員」は、東工大リサーチリポジトリ（T2R2）にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。