

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	細胞内タンパク質結晶エンジニアリングによるナノ結晶構造決定
Title(English)	In-cell protein crystal engineering for nanocrystal structure determination
著者(和文)	小島摩利子
Author(English)	Mariko Kojima
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第12490号, 授与年月日:2023年6月30日, 学位の種別:課程博士, 審査員:上野 隆史,石井 佳誉,北尾 彰朗,金原 数,田口 英樹
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12490号, Conferred date:2023/6/30, 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	小島摩利子	
論文審査 審査員		氏名	職名		氏名	職名
	主査	上野隆史	教授	審査員	田口英樹	教授
	審査員	石井佳誉	教授			
		北尾彰朗	教授			
金原数		教授				

論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「In-cell protein crystal engineering for nanocrystal structure determination (細胞内タンパク質結晶エンジニアリングによるナノ結晶構造決定)」と題し、5章より構成されている。

Chapter 1 “General introduction”では、タンパク質結晶構造解析に向けた結晶エンジニアリングの概説と、細胞内タンパク質結晶の構造解析・分子固定法について概説し、本研究の目的と意義を論じている。

Chapter 2 “Engineering of an in-cell protein crystal for fastening a metastable conformation of a target miniprotein”では、細胞内タンパク質結晶の1つである多角体のループ領域に10残基からなるミニタンパク質 CLN025 を融合した複合結晶の構造解析によって、CLN025 の準安定構造の決定を達成している。さらに分子動力学シミュレーションによって、CLN025 の準安定構造が PhM との間に形成される2本の塩橋によって誘起されることを明らかにしている。これらの結果を踏まえ、タンパク質結晶内に様々な分子間相互作用を誘起する環境を構築する結晶エンジニアリングが、タンパク質の中間体状態や遷移状態の構造解析を実現すると論じている。

Chapter 3 “Screening system for structure determination of intrinsically disordered protein using cell-free protein crystallization”では、無細胞タンパク質結晶化法を用いた迅速な結晶エンジニアリングを実現するスクリーニングシステムを構築し、さらにコンピューターによるタンパク質分子設計を組みこむことで、構造決定を目的とした合理的な結晶設計を実現している。構造決定に向けた設計検討は、(1) PhM 内の IDP 融合サイト候補のピックアップ、(2) 11 残基 IDP フラグメントの融合サイトの決定、(3) IDP フラグメントの挿入位置の決定の3段階のスクリーニングによって行い、最終的に11残基の IDP 由来フラグメントの構造決定に達成している。以上より、本 Chapter で確立されたスクリーニングシステムはターゲット分子の構造決定に有効な結晶設計指針を取得するための網羅的な設計検討を可能にする と論じている。

Chapter 4 “Cell-free protein crystallization for rapid structure determination of multiple substrates”では、Chapter 3 で確立されたスクリーニングシステムを基質の構造決定に適用し、二糖類を補足する足場タンパク質結晶として生体内で結晶化する Galectin-10 (Gal10)に着目して二糖類の構造決定を行っている。Gal 10 は無細胞タンパク質合成系によって結晶化され、in-house X 線回折測定での高分解能構造決定を達成している。Gal10 への二糖類の固定は浸漬によって行われ、最終的に複数の二糖類の構造決定に成功している。さらに分子動力学シミュレーションにより、Gal 10 の基質結合サイトにおける糖類基質の固定に必要なアミノ酸残基の存在を明らかにしている。以上を踏まえ、ターゲットに合わせた足場タンパク質結晶結合サイトの設計指針を提案し、今後はターゲット分子に対する足場結晶の特異性を制御できると論じている。

Chapter 5 “General Conclusion”では、Chapter 1-4 で得られた知見から、ターゲット分子の構造決定に必要な結晶エンジニアリングの指針と、それを実現するための手法を提唱している。さらに本研究の展望として、これまでに解析されてこなかったターゲット分子の構造解析や機能解明・設計を実現する可能性を示している。

以上を要するに、本論文は汎用性の高い結晶エンジニアリングによる分子の構造決定と構造制御を実現するための基盤を築いたものであり、理学上貢献するところが大きい。よって、本論文は博士(理学)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。