

論文 / 著書情報  
Article / Book Information

題目(和文)	固体材料開発を志向した細胞内タンパク質結晶の構造解明
Title(English)	Structural elucidation of in-cell protein crystals for development of solid-materials
著者(和文)	田中潤子
Author(English)	Junko Tanaka
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12665号, 授与年月日:2024年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:上野 隆史,近藤 徹,野澤 佳世,松浦 友亮,丸山 厚
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12665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

(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	田中潤子	
論文審査 審査員		氏名	職名	氏名	職名
	主査	上野隆史	教授	丸山厚	教授
	審査員	近藤徹	講師		
		野澤佳世	准教授		
松浦友亮		教授			

### 論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「固体材料開発を志向した細胞内タンパク質結晶の構造解明(Structural elucidation of in-cell protein crystals for development of solid-materials)」と題し、5章より構成されている。

第1章「緒言」では、固体材料として利用されているタンパク質結晶設計の概説と、細胞内タンパク質結晶を用いることによって期待される機能化と構造解析における課題について概説している。その研究背景より、構造未知の細胞内タンパク質結晶 CipA, CipB, Cry1Aa の構造解明を目的として、その意義を論じている。

第2章「無細胞タンパク質結晶化による CipA 結晶化の制御と構造解析」では、細胞内でツイン率が高い結晶を形成する CipA の結晶構造解析を、「無細胞タンパク質結晶化 (Cell-free protein crystallization, CFPC)」へ添加剤を導入した手法の確立により達成している。具体的には、1,4-ジオキサンの導入により CipA のツイン率が減少したことから、結晶格子が制御されたことが示唆されている。本成果により、CipA が対称性の高い4量体をビルディングブロックとして層状格子を形成することが明らかになり、外部環境の変化により、様々な結晶格子の構築が可能になることを提唱している。さらに本章で確立した手法が、他のタンパク質の結晶構造解析や、結晶化プロセスの解明に応用されることが期待されている。

第3章「細胞内結晶化タンパク質ケージの結晶・溶液構造の解析」では、大腸菌や CFPC により合成した結晶を用いた構造解析が困難であった CipB を、大腸菌から精製した結晶を溶解後、再結晶化することにより構造決定を達成している。結晶構造解析により、CipB は4量体が6つ集積した24量体ケージを形成することを明らかにしている。さらに、クライオ電子顕微鏡 (cryo-EM) 単粒子解析により溶液状態における24量体ケージ構造を決定し、結晶状態との構造の違いを論じている。構造の歪みやサブユニット間相互作用の柔軟性を伴う24量体ケージから構成される CipB 結晶は、堅牢な24量体ケージ構造を形成する Ferritin とは異なる機能化を実現できることを提唱している。

第4章「*Bacillus thuringiensis* から精製した天然 Cry1Aa の結晶構造解析」では、結晶内においてタンパク質集合体を安定化させるジスルフィド結合に着目し、それを形成すると考えられている Cry1Aa の結晶構造解析を行なっている。これまでシステイン残基欠損体の再結晶化により全長構造が解明されてこなかった課題を、*Bacillus thuringiensis* (Bt 菌) 内で合成した Cry1Aa 結晶を細胞から精製し、構造解析することにより達成している。システインリッチな C 末端ドメインから構成される Cry1Aa は、対称性の高い2量体が C 末端ドメインを介したジスルフィド結合を形成することを明らかにしている。結晶格子内が3次元に架橋化されることにより、結晶を安定化していることを考察している。本成果は、Cry1Aa 結晶の生物学的機能の解明にも繋がることを論じている。

第5章「総括」では、第1-4章で得られた知見から、新しい固体材料の開発において CipA, CipB, Cry1Aa の分子構造から提示できる設計指針を考察している。結晶化プロセスに着目して結晶化・構造解析手法を応用させることにより、タンパク質分子が結晶として組み上がる仕組み、その際に生じる構造変化を捉えることが可能になり、細胞内タンパク質結晶の機能化には「動的」な要素が関わる可能性を論じている。

以上を要するに、本論文は生体材料の概念を超えた機能化を実現するための、細胞内タンパク質結晶に期待される可能性を提示したものであり、理学的に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。