

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	
Title(English)	Construction of Functional Solid Biomaterials Using In-cell Protein Crystals
著者(和文)	PHAMToan Thuc
Author(English)	Toan Thuc Pham
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12518号, 授与年月日:2023年9月22日, 学位の種別:課程博士, 審査員:上野 隆史,田口 英樹,金原 数,三重 正和,松田 知子
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12518号, Conferred date:2023/9/22, 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	Thuc Toan Pham	
論文審査 審査員		氏名	職名	氏名	職名
	主査	上野隆史	教授	三重正和	准教授
	審査員	田口英樹	教授	入力	入力
		金原 数	教授		
松田知子		准教授			

論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「Construction of Functional Solid Biomaterials Using In-cell Protein Crystals (細胞内タンパク質結晶エンジニアリングによる機能固体材料の創成)」と題し、5章より構成されている。

Chapter 1 “General introduction”では、タンパク質結晶機能化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 “Design of an In-Cell Protein Crystal for the Environmentally Responsive Construction of a Supramolecular Filament”では、環境応答性架橋 Cathepsin B from *T. brucei* (TbCatB)の結晶設計から二重フィラメントタンパク質集合体を合成している。合理的な設計により、細胞内 TbCatB 結晶のシステイン変異体 R91C/T223C は、酸化剤処理することなく、精製結晶内で自発的にジスルフィド結合ネットワークを形成することを明らかとしている。元の TbCatB 結晶環境が提供する隣接する 2本のフィラメント間の特殊な非共有結合性タンパク質-タンパク質界面によって引き起こされる酸性条件 (pH 3.5) で架橋結晶を溶解することにより、ユニークな二重フィラメントタンパク質集合体を達成している。

Chapter 3 “Displaying a protein cage on a protein crystal by in-cell crystal engineering”では、多角体結晶結合タグである多角体に存在する H1 フラグメントを融合したタンパク質ケージとして H1-Ferrii (H1-Fr) を多角体結晶(PhC)へ細胞内で自発的に固定化する方法を確立している。H1 不フラグメントをフェリチンの N 末端に融合した H1-Fr が 24 サブユニットのケージ構造を形成することをあきらかとしている。その結果、H1-Fr ケージはフェリチンケージの外表面に 24 個の H1 フラグメントが提示され、これが多角体結晶への多点相互作用を誘発することを示している。さらに、H1-Fr が PhC の結晶化を妨ぐことなく、PhC 結晶表面との多点相互作用によって、ハイブリッド結晶 H1-Fr/PhC の表面近傍に固定化されていることを各種計測により明らかとしている。

Chapter 4 “A Protein Needle Facilitates Encapsulation of Target Proteins via In-Cell Protein Crystallization”では、針状タンパク質集合体であるプロテインニードル (PN) を標的タンパク質足場として用いることにより、PhC 結晶への外来タンパク質の取り込み効率を向上させる方法を確立している。この方法では、単量体タンパク質をターゲットとしている。PN は表面の負静電ポテンシャルが高いため、PhC 結晶の効率的なカプセル化タグであることを各種測定により実証している。最初のターゲットタンパク質の例として PN へ融合した H1 タグを融合した sfGFP を PN の N 末端に融合することにより、H1-sfGFP-PN の構築に成功している。さらに、この複合タンパク質が、H1-sfGFP に比べて、sfGFP の PhC への内包量を著しく向上することを見出している。そのメカニズムとして、PN の自己組織化と PN の C 末端に存在する His タグクラスターとの相互作用がより大きな H1-sfGFP-PN の集合化を促し、PN の表面電荷と PhC の表面電荷の強い相互作用のシナジー効果により、sfGFP の PhC への封入を著しく向上させた結論している。

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制御と機能化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。