

Title	Structural studies on thermostable proteins by using a novel X-ray diffraction measurement system
Author(s)	Okazaki, Nobuo
Citation	大阪大学, 2013, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/27532
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

-613-

 氏
 名
 簡
 できずり
 できずり
 できずり

 博士の専攻分野の名称
 博士(工学)

 学位記番号第25763号

学位授与年月日 平成25年3月25日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第4条第2項該当

学 位 論 文 名 Structural studies on thermostable proteins by using a novel X-ray

—【195】

diffraction measurement system

(新たなX線回析測定システムを利用した耐熱性タンパク質の構造学的研

究)

論 文 審 査 委 員 (主査)

教 授 井上 豪

(副査)

 数 授 林
 高史
 数 授 字山
 浩
 数 授 桑畑
 進

 数 授 大島
 巧
 数 授 南方 聖司
 数 授 今中 信人

 数 授 平尾 俊一
 数 授 町田 憲一
 数 授 安藤
 陽一

 数 授 古澤 孝弘

論文内容の要旨

本論文は、耐熱性のタンパク質の構造的特徴を工業利用に応用することを目指し、耐熱性タンパク質の構造ー機能の相関研究について述べられており、緒言、本文3章、および総括から構成されている。本研究ではタンパク質X線結晶構造解析の手法を用いることで、これまで解明されてこなかったトレハロース生合成経路における各段階の反応メカニズムの解明、および、利用されている反応に耐熱性タンパク質の特性を導入することで反応効率を向上させることを目標とし、耐熱性タンパク質の構造生物学的な研究に取り組んだ。

緒言では、研究テーマとして取り上げたトレハロース合成に関わるタンパク質の反応経路についての説明と、タンパク質の耐熱性についての説明、および、その特性を解明する意義、ならびに、耐熱性タンパク質の効率的な構造決定を行うために開発した測定システムの意義、中性子結晶構造解析の手法について述べた。

第1章では超好熱古細菌Sulfolobus shibatae DSM5389由来Glycosyltrehalose synthase (GTSase)のX線結晶構造解析について述べた。この酵素は、トレハロース合成において、ロ-1,4結合をロ-1,1結合に転移させる反応に関わる酵素である。本酵素の全体構造を決定し、その構造と既知のロ-アミラーゼの反応機構とを組み合わせることにより反応の際に重要と考えられる残基の特定、および、反応機構の推定を行った。

第2章では超好熱古細菌Sulfolobus solfataricus KM1由来Glycosyltrehalose trehalohydrolase (GTHase)のX線結晶構造解析について述べた。これはトレハロースの生合成において、第1章の反応に続く次の反応に関与している酵素であり、GTSaseによって得られた生成物の末端からトレハロース分子を切り離す役割を担っている。本酵素において、変異体を用いた構造生物的解析により、トレハロースを認識する残基の特定および結合様式を決定した。

第3章では耐熱性タンパク質の構造研究を効率的に進める上で開発したデータ測定システムについて述べるとともに、数種の好熱菌由来タンパク質のX線結晶構造解析について述べた。耐熱性を有した一連のタンパク質の網羅的構造解析による構造特性の解明はタンパク質を工業的に有効利用するために不可欠な手段であり、本研究においては今後の網羅的な構造解析にも貢献できる効率的な測定システムを開発し、そのシステムを用いることで得られた耐熱性タンパク質の構造についての考察を述べた。また、さらに耐熱性の研究を詳細に進めるための

中性子結晶構造解析の装置および構造解析の概要について述べた。中性子を利用した結晶構造解析では原子散乱長の違いにより水素原子の位置を決定することができるため、耐熱性タンパク質の反応についての知見を得ることができると期待される。

論文審査の結果の要旨

本論文は、耐熱性のタンパク質の構造的特徴を工業プロセスに応用することを目指し、耐熱性タンパク質の構造と機能の相関に関する研究について述べられており、緒言、本文3章、および総括から構成されている。本研究ではタンパク質X線結晶構造解析の手法を用いることで、これまで解明されてこなかったトレハロース生合成経路における各段階の反応メカニズムの解明、および、工業プロセスに利用されている反応に耐熱性タンパク質の特性を導入することで反応効率を向上させることを目標とし、耐熱性タンパク質の構造生物学的な研究に取り組んだものである。

緒言では、本研究課題として取り上げたトレハロースの合成に関わるタンパク質の反応経路や、タンパク質の耐熱性について説明するとともに、その特性を解明する意義について述べている。また、耐熱性タンパク質の効率的な構造決定を行うために開発した測定システムの意義や中性子結晶構造解析の有効性についても述べられている。

第1章では超好熱古細菌Sutfolobus shibatae DSM5389由来Glycosyltrehalose synthase (GTSase)のX線結晶構造解析について述べられている。この酵素は、トレハロース合成において、ロ-1,4結合をロ-1,1結合に転移させる反応に関わる酵素である。本酵素の全体構造を決定し、その構造と既知のローアミラーゼの反応機構とを組み合わせることにより反応の際に重要と考えられる残基の特定、および、反応機構の推定を行っている。

第2章では超好熱古細菌Sulfolobus solfataricus KM1由来Glycosyltrehalose trehalohydrolase (GTHase)のX線結晶構造解析 について述べている。これはトレハロースの生合成において、第1章の反応に続く反応に関与している酵素であり、 GTSaseによる生成物の末端からトレハロース分子を切り離す役割を担っている。本酵素においては、変異体を用いた 構造生物的解析により、トレハロースを認識する残基の特定および結合様式を決定している。

第3章では数種の好熱菌由来タンパク質のX線結晶構造解析について述べられており、前2章の結果との比較を含めた耐熱性の議論が行われている。耐熱性を有した一連のタンパク質の網羅的構造解析による構造特性の解明はタンパク質を工業的に有効利用するために不可欠な手段である。本研究においては今後の網羅的な構造解析にも貢献できる効率的な測定システムを開発し、そのシステムを用いることで得られた耐熱性タンパク質の構造についての考察、さらに耐熱性の研究を詳細に進めるための中性子結晶構造解析の装置および構造解析の概要について述べられている。中性子を利用した結晶構造解析では原子散乱長の違いにより水素原子の位置を決定することができ、これらを応用した構造解析では耐熱性タンパク質の反応についてのより深い知見が得られるものと期待される。

以上のように、本論文は工業利用されているタンパク質および耐熱性タンパク質を用い、それらの構造生物学的特性を工業利用へと応用するための重要な知見を与えている。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。