OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Crystal structure determination of Escherichia coli polyamine binding protein and molecular mechanism of polyamine binding
Author(s)	杉山, 成
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3129335
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【 32 】

氏名	杉山成（すぎやましげる）
博士の専攻分野の名称	博士（工学）
学位記番号	第 13304 号
学位授与年月日	平成 9 年 5 月 23 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	Crystal structure determination of *Escherichia coli* polyamine binding protein and molecular mechanism of polyamine binding **（大腸菌ポリアミン結合蛋白質の結晶構造解析とポリアミン結合の分子機構）**
論文審査委員	（主査） 教授 甲斐 泰 （副査） 教授 野島 正朋　教授 卜部 格　教授 米山 宏 教授 大島 巧　教授 小松 満男　教授 足立 吟也 教授 城田 靖彦　教授 平尾 俊一　教授 新原 皓一 教授 田川 精一

論文内容の要旨

本論文は，ポリアミン結合蛋白質の構造とポリアミン結合の分子機構を原子レベルで解明し，その構造化学的知見を新しい抗癌剤の開発に適用することを目的として行われた研究をまとめたものである。第 1 章から第 6 章で構成されている。

第 1 章では，ポリアミン結合蛋白質（PotD および PotF）についての背景を概説し，本研究の意義と目的について述べている。

第 2 章では，PotD-スペルミジン複合体の結晶化および X 線回折強度データの収集実験について述べ，結晶格子内における PotD のパッキング状態について考察している。

第 3 章では，PotD-スペルミジン複合体の立体構造を2.5Å分解能で決定し，その分子構造の特徴やポリアミン結合機構について議論している。PotD 分子は楕円形をしており，その中央の溝に基質結合部位が存在することを明らかにしている。またスペルミジンのアミノ基は，PotD 分子の主に酸性残基との静電的相互作用によって認識され，メチレン主鎖は芳香族残基とのファンデルワールス相互作用によって認識されていることを明らかにしている。その結果から，PotD のプトレスシンに対する結合活性が，スペルミジンのそれよりも低い理由について推察している。

第 4 章では，第 3 章の結果をもとに基質結合に関係しているアミノ酸残基について13種類の変異体を作製し，これらの変異体のポリアミン結合活性および取り込み活性について調べている。その結果，PotD とスペルミジンとの結合には，スペルミジンのジアミノブタン部分よりもアミノプロピレン部分が重要であることを明らかにしている。またプトレスシンは，スペルミジンのジアミノブタン部分と同じ位置で PotD に結合することを推察している。

第 5 章では，PotD と PotF との異なる基質特異性について考察している。PotF はポリアミン取り込み系の結合蛋白質であり，PotD とは対照的にプトレスシンにのみ結合活性をもっている。これらの異なる基質特異性を理解するために，PotD の立体構造をもとにして PotF の分子モデルを構築している。その結果，PotF の分子モデルでは正電荷を持った残基がスペルミジンのアミノプロピル部分のアミノ基の近くに位置すること明らかにしている。この正電荷を持った残基が，スペルミジンの結合を静電的な反発力によって阻害していることを推察している。

第6章では，本研究で得られた成果をまとめ，抗癌剤開発への可能性を述べている。

以上のように，本研究では細胞増殖因子であるポリアミンとそれを特異的に認識するPotDおよびPotFを対象とし，種々の方法により構造と機能を解明し抗癌剤の開発へ向けての方向性を示している。

論文審査の結果の要旨

本論文は，ポリアミン結合蛋白質（PotDおよびPotF）の構造とポリアミン結合の分子機構を種々の方法を用いて解明し，その構造化学的知見を新しい抗癌剤の開発に適用することを目的として行われた研究をまとめたものである。その主な成果は，次の通りである。

(1) PotD-スペルミジン複合体の分子構造の解析に初めて成功している。その結果PotD分子は，同じペリプラズムに存在するマルトース結合蛋白質の（MBP）と類似していることを明らかにしている。

(2) PotDとMBPの分子構造を比較した結果，PotD—スペルミジン複合体の分子構造はスペルミジンを結合することによって，「開いた」構造から「閉じた」構造へコンホメーション変化したものであることを示している。

(3) PotDとMBPに存在する配列モチーフは，立体構造上もよく保存されていることを明らかにしている。またこのモチーフが，取り込みシステムにおいてある共通の機能的な役割を担っている可能性を示している。

(4) ポリアミンを蛋白質がどのように認識しているのかを，初めて立体構造から明らかにしている。ポリアミンのアミノ基は，主に酸性残基との静電的な相互作用によって認識し，メチレン主鎖は芳香族残基とのファンデルワールス相互作用によって認識していることを明らかにしている。

(5) PotDの変異体を作製し，それらのポリアミン結合活性および取り込み活性について調べた結果，PotDとスペルミジンが強く相互作用しているのはアミノプロピル部分であることを示している。またプトレスシンは，スペルミジンのジアミノブタン部分と同じ位置でPotDに結合することを推察している。

(6) PotDとPotFとの異なる基質特異性を理解するために，PotFの分子モデルを構築している。その結果，PotFの正電荷を持った残基が，スペルミジンの結合を静電的な反発力によって阻害していることを示している。

(7) Structure-Based Drug Designによる抗癌剤開発へ向けての有用な情報と指針を示している。

以上のように，本論文はポリアミン結合蛋白質の構造とポリアミン結合の分子機構を蛋白質結晶解析法，部位特異的変異法，コンピューターモデリング法を用いて解明し，抗癌剤開発へ向けての有用な情報と指針を示している。これらの成果は，Structure-Based Drug Designによる新規な抗癌剤開発への端緒を開いたものと高く評価できる。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。