

| | |
|--------------|--|
| 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 | |

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

| | |
|---------------|--|
| 氏 名 | すぎ 杉 山 成 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 1 3 3 0 4 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 <i>Escherichia coli</i> 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 のブ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。またブトレスシンは、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 とは対照的にブ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レン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。