

Title	Studies on PPIase activity and chaperone function of FKBP22 from <i>Shewanella</i> sp. SIB1 with a V-shaped dimeric structure
Author(s)	Cahyo, Budiman
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/59939">https://hdl.handle.net/11094/59939</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

【5】

氏名	チヤヒョ ブディマン Cahyo Budiman
博士の専攻分野の名称	博士 (工学)
学位記番号	第 25590 号
学位授与年月日	平成24年6月30日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 工学研究科生命先端工学専攻
学位論文名	Studies on PPIase activity and chaperone function of FKBP22 from <i>Shewanella</i> sp. SIB1 with a V-shaped dimeric structure (V型2量体構造をもつ <i>Shewanella</i> sp. SIB1 由来 FKBP22 の PPIase 活性とシャペロン機能に関する研究)
論文審査委員	(主査) 教授 金谷 茂則  (副査) 教授 福井 希一 教授 原島 俊 教授 紀ノ岡 正博 教授 福崎 英一郎 教授 大竹 久夫 教授 渡邊 肇 教授 村中 俊哉 教授 仁平 卓也 教授 藤山 和仁

## 論文内容の要旨

SIB1 FKBP22 is a homodimeric protein with peptidyl prolyl *cis-trans* isomerase activity for peptide (PPIase<sub>pep</sub>) and protein (PPIase<sub>pro</sub>) substrates. According to its tertiary model, SIB1 FKBP22 assumes a V-shaped dimeric structure, in which each monomer consists of the N-domain responsible for dimerization and the C-catalytic domain. In this study, we validated the tertiary model and clarified the dimerization at the atomic level using the crystal structure of the N-domain with half of the  $\alpha$ 3-helix (SN-FKBP22) at 1.9 Å resolution. Further study on an engineered monomeric mutant protein of SIB1 FKBP22 (NNC-FKBP22) revealed

that a V-shaped dimeric structure is important for efficient binding to a protein substrate. Meanwhile, a series of the mutant proteins at the substrate binding cavity (D137A, R142A, W157A/F/Y, F197A/L/Y/W, and D137A/R142A) were constructed and biochemically characterized. The results allowed us to deeply discuss the role of each residue and possible catalytic mechanism. Further analysis on the PPIase activity and chaperone function of these mutant proteins revealed that PPIase activity is not required for chaperone function. However, chaperone function is required for PPIase<sub>pro</sub> activity.

## 論文審査の結果の要旨

本論文は、ペプチジルプロリルシストランスイソメラーゼ (PPIase) の一種である好塩菌 *Shewanella* sp. SIB1 株由来 FKBP22 (SIB1 FKBP22) の N 末端ドメインの X 線結晶構造、V 型二量体構造形成の意義、触媒機構、シャペロン機能と PPIase 活性の相関について研究したものであり、以下に示すように、序論、本論 4 章、および総括から構成されている。第一章 (序論) では、PPIase の分類、構造、酵素活性、シャペロン活性、生理機能などに関するこれまでの研究をまとめると共に、SIB1 FKBP22 の構造と機能に関してこれまで行われてきた研究の背景に触れ、本研究の目的と意義を述べている。第二章では、SIB1 FKBP22 の N 末端ドメインの結晶構造を決定することにより、このドメインは二量体構造を形成すること、このドメインは SIB1 FKBP22 分子の V 型二量体構造の基盤を形成すること、各サブユニットは 3 つの  $\alpha$ -helix から成ること、サブユニット界面においては  $\alpha$ 1-helix 同士、 $\alpha$ 2-helix 同士が逆平行 coiled-coil 構造を形成し主として疎水性相互作用により安定化されていること、を明らかにしている。また界面の疎水性相互作用の中でも特に重要と考えられる Val-Leu not を極性残基の導入により壊すと、N 末端ドメインが変性して SIB1 FKBP22 はモノマーとして存在すること、同時にタンパク質基質に対する PPIase 活性やシャペロン活性を失うこと、を明らかにしている。第三章では、モノマーとして存在する変異体を設計、構築し、PPIase 活性およびシャペロン活性を測定することにより、V 型二量体構造はタンパク質基質に対する PPIase 活性やシャペロン活性に必要であることを明らかにしている。第四章では、C 末端触媒ドメインの活性部位を構築すると考えられるアミノ酸に変異を導入し、得られた変異体の PPIase 活性を測定することにより、いずれも PPIase 活性に重要な役割を果たすことを明らかにしている。また、これらの結果に基づき、Asp のプロトン化した側鎖による窒素原子のローンペアの局在化と、疎水性残基による水和の障害がペプチド結合の回転の促進に必要という本酵素の新たな触媒機構を提案している。第五章では、様々な活性部位変異体のシャペロン活性を、部分変性したタンパク質への結合とインシュリンの凝集阻害を指標に評価することにより、PPIase 活性はシャペロン活性に必要ではないが、シャペロン活性はタンパク質基質に対する PPIase 活性に必要であることを明らかにしている。第六章 (総括) では、本研究で得られた結果に基づき SIB1 FKBP22 の基質認識機構、触媒機構について考察するとともに、今後の産業利用の可能性や展望について述べている。

以上のように、本論文は好塩菌由来 FKBP22 の構造、PPIase 活性、安定化機構、シャペロン活性に関して新たな知見を見いだした点で意義深い。また、本論文は本酵素の産業的利用を図る上で有益な知見を与えるものである。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。