

論文審査の結果の要旨

氏名 福原 慧

本論文は、自己防御機構関連因子に関して、レトロトランスポソンの発現を抑制する piRNA の産生経路に関わるショウジョウバエ由来のタンパク質 Zucchini (Zuc)及び *Agrobacterium tumefaciens* 由来の Effector (Tae4) - Immunity (Tai4) 複合体の構造機能解析について記述されている。本論文は第1章「General Introduction」、第2章「Crystal structure of Zucchini from *Drosophila melanogaster*」、第3章「Crystal structure of Type VI Effector-Immunity complex from *Agrobacterium tumefaciens*」、及び第4章「General Discussion」から構成されている。

第1章「General Introduction」では自己防御機構に関しての導入が述べられている。自己防御機構は、生命の基本単位である細胞の観点から考えると、細胞内で起こる異常に対する応答と、細胞外の異常に対する応答の二つに分けられる。著者は、内因性の異常に対する応答の一つとして、レトロトランスポソンの発現抑制機構に、外因性の異常に対する応答の一つとして、細菌が外分泌する毒性を持つトキシン (Effector) とそれを抑制するアンチトキシン (Immunity) に着目し関連するタンパク質の研究を行った事が述べられている。

第2章で、著者は、レトロトランスポソンの発現を抑制する piRNA の産生経路に関わるショウジョウバエ由来のタンパク質で、ホスホリパーゼ D がスーパーファミリーに属する Zuc の、単量体の構造と二量体の構造を、それぞれ 2.2 Å と 1.75 Å の分解能で決定した。Zuc の構造は、配列相同性を持つ細菌のヌクレアーゼ Nuc と同様に正に帯電した酵素活性部位を二量体の界面に持っていたため、Nuc と同様に核酸を結合するのに適していると考えられた。しかし二本鎖の核酸を切断する Nuc に比べて、Zuc の活性部位の幅は狭く、二本鎖の核酸は結合するのに適さず、一本鎖の核酸を認識していると考えられた。また、Zuc の酵素活性部位は、脂質を分解する典型的なホスホリパーゼの構造とは異なっており、脂質を認識しないと考えられた。共同研究先で行われた機能解析により、Zuc は一本鎖 RNA を切断する酵素活性を持つ事、脂質を分解しない事、Zuc の活性はトランスポソンの抑制と piRNA 産生に関連する事が示された。構造解析と機能解析の結果を合わせて、本研究では構造と機能の両面から Zuc が piRNA の産生に関連するリボヌクレアーゼである事が示された。

第3章で、著者は *Agrobacterium tumefaciens* 由来の Tai4 単体と Tae4-Tai4 複合体の結晶構造を、それぞれ 1.55 Å と 1.9 Å の分解能で決定した。得られた構造を、近似構造である *Serratia marcescens* 由来の Tae4-Tai4 複合体と比較することで、*A. tumefaciens* に特異的な Tai4 による Tae4 の毒性抑制機構を明らかにした。また *A. tumefaciens* 由来の Tae4 の活性部位を他の生物種由来の Tae4 と比較し、Tae4 ファミリーの中で *A. tumefaciens* と *S. marcescens* が、他の生物種とは異なる活性機構を持つことを明らかにした。

第4章「General Discussion」では、第2章・第3章を統括して考察が述べられている。

本論文では piRNA の産生経路に関わるタンパク質 Zuc の結晶構造が決定され、その立体構造情報に基づいた機能解析が行われた。更に *A. tumefaciens* 由来の Tai4 単体と Tae4-Tai4 複合体の結晶構造が決定された。Zuc の機能と piRNA 産生経路における Zuc の役割が構造機能解析により明らかになり、また Tae4-Tai4 複合体の結晶構造を他の生物種由来の Tae4-Tai4 複合体と比較することにより、Tai4 による Tae4 の毒性抑制機構への理解が進展させられた。論文は、確かな実験データと先行研究に基づき、明瞭に論じられている。なお、本論文の第2章は、西増弘志、石津大嗣、齋藤都暁、鎌谷太陽、Bonfond Luc、松本直樹、西澤知宏、中永景太、青木淳賢、石谷隆一郎、塩見春彦、塩見美喜子、濡木理との共同研究であり第3章は、中根崇智、山下恵太郎、石井亮平、石谷隆一郎、濡木理との共同研究であるが、論文提出者が主体となり研究が遂行されており、論文提出者の寄与は十分であると判断する。

したがって、博士 (理学) の学位を授与できると認める。