

論文審査の結果の要旨

氏名 宮内 弘剛

本論文は、第1章「General Introduction」、第2章「Structural study of an eukaryotic MATE transporter from *Arabidopsis thaliana*」、第3章「Molecular dynamics simulations」、第4章「Biochemical analyses」、第5章「General discussion」の計5章から構成されている。

第1章は本論文の序章であり、生物の獲得してきた異物排出機構の導入から始まり、MATEの持つ生物学的な役割の紹介が記述されている。この章では特に、MATEが3つのサブファミリーに分類されることに焦点が当てられており、DinF型、NorM型、真核生物型の3つのMATEについて、これまで先行研究によって蓄積されてきた知見および研究開始当時の課題について記述されている。

第2章では、真核生物に由来するMATEのホモログスクリーニング、*Arabidopsis thaliana*に由来するMATEであるAtDTX14の精製、結晶化、X線結晶構造解析について詳細に記述されている。論文提出者は、精製タンパクを脂質二重膜に再構成して結晶化する手法であるLipidic cubic phase (LCP)法を用いてAtDTX14の高分解能構造を決定した。得られたMATEの構造において、7番目の膜貫通ヘリックス(TM7)大きく折れ曲がり、基質結合ポケットが存在すると思われる領域を押しつぶしている構造をとっていた。このことから論文提出者はこのTM7および、その周囲の水素結合ネットワークにMATEの輸送機能の中心が備わっていると判断したことが述べられている。さらに、本構造について、その細胞内外のゲートについても詳細に述べられている。

第3章では、計算機シミュレーションを用いた解析について記述されている。論文提出者は分子動力学シミュレーションを用いて、MATEの基質結合ポケットの解析およびMATEの細胞内開状態の構造の取得に取り組み、またそのモデル構造の妥当性について議論している。

第4章では、結晶構造および計算機シミュレーションの結果から推測されるMATEの基質輸送サイクルについて、生化学的な実験によって検証している。第2章、第3章の結果からたてられたMATEの輸送サイクルモデルにおいて重要であると判断されるアミノ酸について変異を導入した変異体を作製し、HEK293細胞への基質の取り込み量を計測することによってその輸送活性を測定している。得られた解析結果から、構造解析・計算機シミュレーションから得られた輸送サイクルモデルの妥当性が裏付けられたということが述べられている。

第5章では、研究成果全体の総括が述べられており、さらにこれまでに報告された原核生物に由来するMATEの構造との比較がなされている。ほかのサブファミリーとの間の構造比較により、MATEファミリータンパク質について深い考察がなされており、MATEがどのようにして現在のような機構を獲得するに至ったかという点についても意見が述べられて

いる。

本論文では、*Arabidopsis thaliana* に由来する多剤排出輸送体である MATE の結晶構造が決定され、さらに分子動力学シミュレーションおよび生化学的解析がおこなわれており、真核生物における MATE の基質排出機構・輸送機構の研究を大きく前進させるものである。さらには、本研究成果を踏まえたうえで、3つのサブファミリーから構成される MATE ファミリータンパク質全体を俯瞰した考察がなされており、今後の MATE の研究を大きく推し進めるものとなることが推定される。なお、本論文の第2章、第3章、第4章は森山 理美博士、草木迫 司博士、熊崎 薫博士、中根 崇智博士、山下 恵太郎博士、平田 邦生博士、堂前 直博士、西澤 知宏博士、伊藤 耕一博士、宮地 孝明博士、森山 芳則博士、石谷 隆一郎博士、濡木 理博士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、そ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。