論文審査の結果の要旨

氏名　草木迫 司

本論文は、第 1 章「General Introduction」、第 2 章「X-ray crystallographic analysis of VcmN, a MATE multidrug transporter from *Vibrio cholerae*」、第 3 章「Crystal structures of VcmN」、第 4 章「Dynamics analysis of VcmN using DEER spectroscopy」、第 5 章「General Discussion」の 5 章から構成されている。

第 1 章は、本論文の序章であり、MATE トランスポーターを含む多剤排出輸送体に関する先行研究について記述されている。その中で特に、原核生物由来 $H^+$駆動型 MATE の基質輸送モデルが論争の的になっている点や、MATE の輸送サイクル全体におけるダイナミクスが不明である点に関して記されており、本研究の目的を提起している。

第 2 章では、*Vibrio cholerae* に由来する MATE である VcmN の精製・結晶化・X 線結晶構造解析について記述されている。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 法を用いて、異なる 2 つの結晶からそれぞれ高分解能構造を決定した。

第 3 章では、決定された結晶構造に基づいて、VcmN に起こる構造変化について記述されている。VcmN の結晶構造は、12 本の膜貫通ヘリックス（TM）からなる細胞外開状態であり、これまで報告された MATE の構造と類似したものだったが、2 つの構造の比較から TM1 の折れ曲がりが明らかとなった。この TM1 の折れ曲がりに関連するものとして、TM1 に位置する保存された Asp 残基を含む水素結合ネットワークの pH 依存的な変化について記述されている。以上の結果と先行研究から、TM1 の構造変化により基質結合部位の容積が減少することが基質輸送の過程で重要であると総合的に考察し、真正細菌および古細菌に由来する $H^+$駆動型 MATE において保存された基質輸送メカニズムについて論じられている。

第 4 章では、二重電子-電子共鳴（DEER）測定を用いて、特定の 2 残基間の距離分布を測定することで、VcmN の TM1 の構造変化および輸送サイクル全体のダイナミクスに関する知見を得ることを目指しておこなった研究について記述されている。界面活性剤環境下に加えて、水溶液中で脂質二重膜環境を再現できるナノディスク環境下での測定もおこなわれている。DEER 測定の結果、結晶構造から示唆された pH に依存した TM1 の構造変化が支持された。さらに細胞内側の TM の端同士の距離分布が、pH 変化に関わらずほとんど変化しないことが示された。この結果から、VcmN は必ずしも細胞内側に開くことなく脂溶性の基質を輸送するのではないかという新たな輸送サイクルに関する可能性について論じられている。

第 5 章では、論文全体を通した総括と、$H^+$駆動型 MATE にとどまらない原核生物由来 MATE に共通した基質輸送メカニズムについて考察が述べられている。

本論文では、*Vibrio cholerae* に由来する MATE トランスポーターの異なる 2 つの結晶構造が決定され、さらに DEER 測定によるダイナミクス解析がおこなわれており、MATE トランスポーターによる基質輸送の分子メカニズムの理解を大きく進展させるものである。な

お、本論文の第 2 章・第 3 章・第 4 章は、田中良樹博士、Christopher J. Hipolito 博士、黒田照夫博士、菅裕明博士、Derek P. Claxton 博士、Hassane S. Mchaourab 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。