論文審査の結果の要旨

氏名　　糟谷 豪

本論文は 5 章からなる。第 1 章は、イントロダクションであり、本論文中で X 線結晶構造解析の標的とした ATP 作動性のイオンチャネル P2X 受容体の機能や過去の構造生物学的な知見についての概略および博士論文の概要、研究目的等が記述されている。第 2 章は、P2X 受容体におけるヌクレオチド塩基特異性について述べられている。過去に ATP 結合状態で X 線結晶構造解析により立体構造決定が行われたゼブラフィッシュ由来 P2X4 受容体を用い、弱い作動薬である CTP が結合した状態で、その立体構造を決定していた。既知の ATP 結合型構造との比較、および構造比較に基づいた電気生理学的解析と分光学的解析を行ったところ、CTP のシトシン環と ATP のアデニン環のいずれもが 3 本の水素結合を形成しつつも、その距離が ATP よりも長いために弱い作動薬として働くことが明らかとなった。以上の結果を踏まえ、P2X 受容体のヌクレオチド塩基特異性に関するモデルが提唱されていた。第 3 章は、P2X 受容体における二価金属イオンによる活性調節機構について述べられている。無脊椎動物 *A. maculatum* 由来 P2X 受容体を用い、その立体構造を ATP と亜鉛イオンが結合した状態で決定した。ATP は既知の P2X 受容体の構造と同じく、三量体境界面の ATP 結合ポケットに結合していた。他方で亜鉛イオンは三量体の境界面（M1 サイト）および ATP 結合サイト共役部（M2 サイト）の 2 箇所に確認された。構造情報に基づいた電気生理学的解析と分子動力学的解析を行ったところ、M1 サイトに結合した亜鉛イオンは P2X 受容体の活性化増強に関わっていること、M2 サイトに結合した亜鉛イオンはマグネシウムイオンの結合を模しており、M2 サイトがマグネシウムイオンによる開閉調節に関与していることが明らかとなった。以上の結果を踏まえ P2X 受容体の亜鉛イオン並びにマグネシウムイオンによる活性調節モデルが提唱されていた。第 4 章は、P2X 受容体における競合阻害剤による不活性化機構について述べられている。チキン由来の P2X7 受容体を用い、その立体構造を P2X 受容体の競合阻害剤として働く TNP-ATP が結合した状態で決定していた。この構造を既知の TNP-ATP 結合状態のヒト由来 P2X3 の構造と比較したところ、TNP-ATP の持つトリニトロフェニル基の配向が大きく異なることが明らかとなった。また既知の ATP 結合開状態およびアポ型閉状態のヒト由来 P2X3 の構造と比較したところ、TNP-ATP のもつトリニトロフェニル基が活性化状態への移行を阻害していることが明らかとなった。以上の結果を踏まえ、P2X 受容体の TNP-ATP による活性阻害モデルが提唱されていた。

上記研究は、構造生物学的手法を用い、P2X 受容体における弱い作動薬および二価金属イオンの結合様式、並びに TNP-ATP により引き起こされる構造変化を原子分解能ではじめて捉えるとともに、そのメカニズムを提唱したものであり、画期的な研究成果と評価される。本論文の第 2 章から 4 章までの主要内容は、提出者を筆頭著者として分子生物学に関する国際誌 3 誌（*Scientific Reports*、*Cell Reports*、*Nature Communications*）に掲載され、すでに複数の論文で引用されていることからも国際的にも一定の評価を受けていると判断される。なお、本論文の第 2 章は藤原祐一郎、塚本寿夫、森永敏史、笠智志、東原和成、石谷隆一郎、古谷祐詞、服部素之および濡木

理（敬称略）との、第 3 章は藤原祐一郎、武本瑞貴、堂前直、中田（名倉）淑子、石谷隆一郎、服部素之および濡木理（敬称略）との、第 4 章は山浦利章、Xiao-Bo Ma、中村凌熙、武本瑞貴、南雲啓充、田中英一、堂前直、中根崇智、Ye Yu、石谷隆一郎、松崎修、服部素之および濡木理（敬称略）との共同研究であるが、論文提出者が主体となり、P2X 受容体の立体構造解析ならびに構造情報に基づいた機能解析を行ったもので、論文提出者の寄与が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。