

# 論文審査の結果の要旨

氏名 河合 武揚

本論文は五章から構成されており第一章では本研究における背景について述べられている。第一章では膜蛋白質の生化学的・物理化学的性質の定量的評価の重要性や現在までにおける膜蛋白質の研究がいかに困難であったか述べられている。その上でこれらの問題点をナノディスクという新しい膜蛋白質の可溶化技術を用いた解決法を示している。また、対象となる膜蛋白質である MsbA の性質や重要性についても述べられている。

第二章では4つの大きさのナノディスクを用いた MsbA の包摂法について述べられている。本章では特に均一な膜蛋白質試料を得るためのナノディスクの包摂の条件検討について述べられている。条件検討では包摂される膜蛋白質である MsbA や脂質との混合比を調節することによって均一な試料の取得に成功している。また、全ての大きさのナノディスクにおいてナノディスク一つに対して正しい構造で MsbA の機能体である二量体が包摂されていることも確認している。

第三章では第二章で得られた試料について生化学的及び物理化学的解析の定量的評価について述べられている。まず熱安定性の評価を行っている。ナノディスクを用いて MsbA を包摂した場合界面活性剤で可溶化された MsbA よりも熱安定性が向上していることが示されている。また、ナノディスクのサイズの違いによりリガンド存在下・非存在下において依存性が示されていた。次に、ATP 加水分解活性の酵素速度論解析について述べられている。酵素活性もナノディスクを用いた方が界面活性剤を用いた場合よりも向上していたことが示されていた。また、酵素活性もナノディスクのサイズの依存性が観察されていた。ATP のアナログを用いた結合解析もこの章で述べられていた。結合もサイズ依存性が見られこれは熱安定性解析や酵素活性で見られていた依存性と合致する結果であった。本章では最後にナノディスクの膜の流動性についての解析がなされていた。ナノディスクはサイズの違いにより膜の流動性を変えそれが他の熱安定性、酵素活性、リガンドとの結合に影響を与えていたことが示された。

この章により生化学的及び物理化学的解析におけるナノディスクを用いた場合の有用性が示され、ナノディスクは脂質-膜タンパク質間相互作用の解析に適していることが示された。

第四章ではナノディスクを用いた応用的な利用法について述べられている。前半では表面プラズモン共鳴法を用いた利用法について、後半では DNA ナノ構造体を用いた利用法について述べられている。表面プラズモン共鳴法を用いて様々な脂質組成のナノディスクにおいて MsbA を包摂し結合の解析に成功していたことから従来までの表面プラズモン共鳴法における膜蛋白質の解析法と比較した有用性が示されていた。DNA ナノ構造体を用いた利用法では DNA ナノ構造上での空間配置の制御と酵素活性測定が行われていた。ナノディスクは DNA ナノ構造上でも変わらず活性を保っていたことから DNA ナノ構造を利用した複雑な膜上における反応系への応用へと結びつくことが期待される。

第五章では本論文の総括が行われておりナノディスクの有用性について述べられている。第二章、第三章で示したような膜蛋白質の基礎的な解析における有用性や第四章で示したような応用的な利用に関しての有用性についても述べられている。

なお、本論文の第二、三、四章の一部は安部 良太、ホセ M. M.カーベイロ、片桐 豊雅、津本 浩平との共同研究であるが論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、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(生命科学)の学位を授与できると認める。