

## (論文内容の要旨)

シャペロニン GroEL は様々な種類のタンパク質と相互作用し、それらを正しい折れ畳み構造に誘導することが知られている。シャペロニンの作用機構については、大腸菌 *Escherichia coli* 由来の分子を中心に研究されていて、GroES と ATP の結合によって「かご」の形をした構造を形成し、その内側に基質を閉じ込めるということが解明されている。ただし、その「かご」の内側で、どのように折れ畳みが誘導されるのかについては、まだ不明なことが多い。本論文では、極低温電子顕微鏡と単粒子解析法を用いて、好熱性細菌 *Thermus thermophilus* 由来の GroEL/ES 複合体の構造を解析した。この複合体は精製の過程で解離がほとんど起こらず、内部に基質タンパク質を含んでいる状態のまま精製されて、単粒子解析法で構造解析された。それゆえ、この構造では基質タンパク質の密度が、GroEL/ES 複合体の創る空洞の中央に、すなわち、どのサブユニットからも離れた位置に観察された。このことは、主要な基質タンパク質と空洞の内壁との間に反発的な相互作用が存在することを示唆する。このような相互作用の存在は、複合体の作る空洞内で外溶液中よりも速くポリペプチドの折れ畳みが起こる、ということを示明できる。この相互作用はまた、基質タンパク質の開放にも関わっていると考えられる。さらに、基質が存在する側のリングに、対称性の崩れた歪んだ構造が観察された。単粒子解析法では、結晶化による相互作用で引き起こされるおそれのある外的要因による変形の可能性が極めて低い。それゆえ、この対称性の崩れは、基質との相互作用によって GroEL/ES 複合体に生じた構造変化であろうと考えられる。このような結果から、内包された基質タンパク質と GroEL/ES 複合体との間の反発的な、例えば電荷による相互作用が形成されることで、複合体の作る「かご」型の構造が基質タンパク質に合わせて変形し、対象性の崩れたリング構造が形成されるというモデルを提案した。

## (論文審査の結果の要旨)

細胞は必要なタンパク質を必要に応じて作製しているが、熱ショックなど環境や条件によって、正しく折れ畳まれていない状態のタンパク質が発生することがある。このようにタンパク質の品質が悪くなると、生死に関わる大問題であるので、細胞は品質管理のための機構を有している。その1つに分子シャペロンと呼ばれる1群の分子の存在が知られている。シャペロニン GroEL の作用機構については、大腸菌 *Escherichia coli* 由来の分子を中心に研究されていて、GroES と ATP の結合によって「かご」の形をした構造を形成し、その内側に基質を閉じ込めるということが解明されている。ただし、その「かご」の内側で、どのように折れ畳みが誘導されるのかについては、まだ不明なことが多い。本論文では、極低温電子顕微鏡と単粒子解析法を用いて、また好熱性細菌 *Thermus thermophilus* 由来の GroEL/ES 複合体の内部に基質タンパク質を含んでいる状態のまま精製されることを活用して構造を解析した。その結果、基質タンパク質の密度が、GroEL/ES 複合体の創る空洞の中央に、すなわち、どのサブユニットからも離れた位置に観察された。このことから、本論文では、主要な基質タンパク質と空洞の内壁との間に反発的な相互作用が存在し、GroEL/ES 複合体の作る空洞内で外溶液中よりも速くポリペプチドの折れ畳みが起こる、ということを説明している。また、この反発的な相互作用は基質タンパク質の開放にも関わっていると示唆している。本論文では、確かに基質タンパク質が GroEL/ES の内壁と接しないような構造が観察されているが、このような解析では内壁と接触している部分がないと確定的に証明することは出来ていないと考えられる。ただし、GroEL/ES 複合体の内壁が、一面負の電荷を有することを X線結晶学的解析を参照しながら議論するとともに、基質が存在する側のリングに、対称性の崩れた歪んだ構造を観察している。単粒子解析法では、結晶化による相互作用で引き起こされるおそれのある外的要因による変形の可能性が極めて低いので、この対称性の崩れは、基質との相互作用によって GroEL/ES 複合体に生じた構造変化であろうと考えられる。また、同じ解析法で解析した大腸菌由来の GroEL/ES 複合体との比較では、対称性を有する構造が解析されている。このような結果から、確定的な証明とは言えないものの、内包された基質タンパク質と GroEL/ES 複合体との間の反発的な相互作用によって、複合体の作る「かご」型の構造が基質タンパク質に合わせて変形し、対象性の崩れたリング構造が形成されるというタンパク質の折れ畳み機構モデルについて踏み込んだモデルを提案した。

以上のように、本論文は博士(理学)の学位論文として十分に価値あるものと認める。また、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。