

|           |                                                                                                                                                 |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏 名       | う 鶴 ざわ たか のり<br>鵜 澤 尊 規                                                                                                                         |
| 学位(専攻分野)  | 博 士 (工 学)                                                                                                                                       |
| 学 位 記 番 号 | 工 博 第 2671 号                                                                                                                                    |
| 学位授与の日付   | 平 成 18 年 3 月 23 日                                                                                                                               |
| 学位授与の要件   | 学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当                                                                                                                         |
| 研究科・専攻    | 工 学 研 究 科 分 子 工 学 専 攻                                                                                                                           |
| 学位論文題目    | COLLAPSE AND SEARCH MECHANISM REVEALED BY<br>SUBMILLISECOND DYNAMICS OF PROTEIN FOLDING<br>(サブミリ秒での折り畳み運動の観察から明らかとなった蛋白質構造形成に<br>おける収縮と探索メカニズム) |
| 論文調査委員    | (主 査)<br>教 授 白 川 昌 宏    教 授 川 崎 昌 博    教 授 渡 辺    宏                                                                                             |

### 論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、蛋白質が折り畳む際の一般則を明らかとすることを目的に行った研究成果をまとめたものであり、4章5節から構成されている。

第1章は、申請論文の研究背景をまとめたものである。蛋白質は、アミノ酸が一次元的に並んだ高分子鎖であり、アミノ酸配列に応じた特定の構造に折り畳むことで、生体内において機能を発揮している。しかし、あるアミノ酸配列が、どのような蛋白質構造に折り畳むのかは未だ難問として残されており、特に100残基を超える蛋白質については、この問題を解くことは不可能とさえいわれている。この難問に対して、構造情報を持たない変性状態から、どのようにして天然状態へ折り畳むのかについて調べ、折り畳み機構を明らかとする試みが数多くなされている。しかし、個々のアミノ酸配列に対して、それぞれの折り畳み機構があることが明らかとなるだけであり、折り畳みの一般則は未だ得られていない。これまでの研究から、折り畳み初期の中間体が既に天然状態の部分的な特徴を持っていることが知られていることから、もし折り畳みの一般則が存在するのであれば、この初期中間体の形成過程であると考えた。本論文では、この過程を観測するために独自に溶液混合装置を開発し、各種分光法で折り畳み初期過程を観測することで、折り畳みの一般則の解明を目指した。

第2章では、折り畳み研究における代表的な蛋白質であるアポミオグロビンの折り畳み過程を詳細に調べることで、一般則となりうる要素の発見を目指している。第2章第1節では、折り畳み研究における代表的な蛋白質であるアポミオグロビンの折り畳み過程を、円二色性分光法とシンクロトロン放射光 X 線小角散乱法を用いて観測した。その結果、折り畳みの初期中間体では、まだ二次構造が形成していない領域をも含んだポリペプチド鎖の大規模な収縮が起きていることを明らかとした。続く第2章第2節および第3節では、折り畳み初期収縮状態の残基ごとの安定性を、パルスラベル水素重水素交換法と核磁気共鳴を用いて調べた。その結果、中間体で形成されている二次構造は、主に初期の収縮によって引き起こされる疎水的な相互作用によって安定化されていることを明らかとした。

疎水性の相互作用は非特異的に働くことから、アポミオグロビンで観測された折り畳み初期の収縮は、折り畳みの一般則である可能性が高まった。そこで、第3章では蛋白質を高分子として捉え、初期収縮の一般性を検討している。高分子物理学において、収縮状態のホモポリマーの回転半径は、モノマー数のべき乗に比例することが知られている。この関係を蛋白質の初期収縮状態において検討するためには、残基数の大きな蛋白質における初期収縮状態の回転半径を知る必要があった。そこで、これまでに報告されている蛋白質よりはるかに大きなアミノ酸残基数を持つヘムオキシゲナーゼの折り畳み過程を観測し、初期収縮状態の回転半径を見積もった。得られたヘムオキシゲナーゼと第2章のアポミオグロビンを含む7種の蛋白質の初期収縮状態の回転半径は、アミノ酸残基数のべき乗に比例することが明らかとなった。その指数部は0.35であり、貧溶媒中の収縮した高分子が持つとされる1/3に非常に近かった。この結果は、蛋白質の折り畳み初期に観察される収縮運動が、コイル・グロビュール転移であることを強く支持する初めての実験データである。以上の結果から、本論文では、

100残基を超える蛋白質は、折り畳む際にアミノ酸残基数で規定される大きさまで非特異的な収縮を起こした後に、天然状態にみられる三次元の相互作用を段階的に構築し天然状態へ折り畳むという機構を提案している。

第4章では、前編を通じての総括と、明らかとなった蛋白質の折り畳み一般則の意義について検討している。

### 論文審査の結果の要旨

本論文は、蛋白質が折り畳む際の一般則を明らかとすることを目的に行った研究成果をまとめたものである。天然状態への構造形成を方向付けている「折り畳みの初期過程」を観測するために、独自に溶液混合装置を開発し、各種分光法で折り畳み過程を観測することで、折り畳みの一般則について検討している。得られた主な成果は以下の通りである。

1. 折り畳み研究における代表的な蛋白質であるアポミオグロビンの折り畳み過程を、円二色性分光法とシンクロトロン放射光 X 線小角散乱法を用いて観測した。その結果、折り畳みの初期中間体では、まだ二次構造が形成されていない領域をも含んだポリペプチド鎖の大規模な収縮が起きていることを明らかとした。

2. 折り畳み初期収縮状態の残基ごとの安定性を、パルスラベル水素重水素交換法と核磁気共鳴を用いて調べた。その結果、中間体で形成されている二次構造は、主に初期の収縮によって引き起こされる疎水的な相互作用によって安定化されていることを明らかとした。

3. これまでに報告されている蛋白質よりはるかに大きなアミノ酸残基数を持つヘムオキシゲナーゼの折り畳み過程を観測することで、非特異的な疎水性相互作用によって引き起こされる蛋白質の初期収縮が、高分子の一般的な性質によって説明されることを初めて示した。

以上、蛋白質の高分子としての側面を、各種分光法を用いて物理化学的に説明した本論文の内容と成果は学術上のみならず、蛋白質の構造予測や新規機能性蛋白質の分子設計といった工学的な応用への基礎に資する意義を認めることができ、本論文は博士（工学）の学位論文として価値あるものと認める。また、平成17年2月17日、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。