

## 博士論文を要約したもの

博士論文題目 シトクロム  $c_{555}$  の円順列変異とヘリックスリンカー挿入による人工タンパク質の創成とその超分子化に関する研究

氏 名 小田 祥也

### (要約)

タンパク質構造体はバイオマテリアルへの応用が期待され、その人工構築に関する研究が盛んに行われている。超好熱菌 *Aquifex aeolicus* 由来シトクロム (cyt)  $c_{555}$  は Val53-Lys57 をヒンジループとして C 末端領域を交換するドメインスワッピングにより多量化する。本論文では、円順列変異と  $\alpha$  ヘリックスリンカー挿入によりタンパク質を設計し、その超分子化を目的としている。

第 1 章では、これまでに報告されているタンパク質ナノ構造体の構築法を紹介し、本研究の位置づけを示している。

第 2 章では、cyt  $c_{555}$  をドメインスワッピングの始点である Val53 から C 末端の Lys87 を N 末端側に配置し (円順列変異)、円順列変異の結合部に 9 残基のアミノ酸からなる  $\alpha$  ヘリックスリンカーを挿入したタンパク質 **BBP- $\ell$ 9** を設計した。**BBP- $\ell$ 9** の単量体溶液を乾燥後、残渣を超純水に再溶解することにより、3 量体を主成分とする多量体が得られた。**BBP- $\ell$ 9** 3 量体は、**BBP- $\ell$ 9** 分子の N 末端領域が別の **BBP- $\ell$ 9** 分子の C 末端領域と相互作用し、挿入した  $\alpha$  ヘリックスリンカーが折れ曲がることにより 3 角形構造を形成することを X 線結晶構造解析により明らかにした。

第 3 章では、**BBP- $\ell$ 9** 3 量体の活性部位と球状ユニットの構造が cyt  $c_{555}$  の構造と類似していることを吸収および CD スペクトルにより示した。**BBP- $\ell$ 9** 単量体では挿入したリンカーの一部がループ構造となっているが、3 量体の形成によりリンカー全長が  $\alpha$  ヘリックスに変化することが示唆された。さらに、**BBP- $\ell$ 9** 3 量体は結晶中で 3 量体間に水素結合を形成することによって 4 つ集まり、4 面構造体を形成することを明らかにした。

第 4 章では、本論文の総括が示されている。

以上のように、本論文では、円順列変異と結合部への  $\alpha$  ヘリックス挿入により、3 角形構造を有する **BBP-19** 3 量体を作製した。さらに、**BBP- $\ell$ 9** 3 量体は結晶中で 3 量体間に水素結合を形成することによって 4 つ集まり、4 面構造体を形成することが明らかとなった。円順列変異と結合部への  $\alpha$  ヘリックス挿入を組み合わせる本手法は新しいナノ構造体の構築に有用であることが示された。