









最終試験結果報告書

報告番号	北里大 乙 第 号	氏 名	田上 宇乃
論文審査担当者	(主査)	北里大学 教授	広野 修一 
	(副査)	北里大学 教授	志鷹 真由子 
	(副査)	北里大学 准教授	西端 芳彦 
	(副査)	昭和大学 教授	合田 浩明 
<h2>成 績</h2> <h3>合 格</h3> <p>[試験結果の要旨]</p> <p>試験担当者は、平成 28 年 6 月 30 日に審査委員会を開催し、田上宇乃氏に対して、学位論文に関係のある学科目（創薬科学・物理化学）及び外国語（英語）の試験を行い、さらに学位論文内容及び関連事項に関する試問を行った結果、十分な学力があるものと認め、合格と判定した。</p> <p style="text-align: right;">以上</p>			

学位論文審査結果報告書

報告番号	北里大 乙 第 号	氏 名	田上 宇乃
論文審査担当者	(主査)	北里大学 教授	広野 修一 
	(副査)	北里大学 教授	志鷹 真由子 
	(副査)	北里大学 准教授	西端 芳彦 
	(副査)	昭和大学 教授	合田 浩明 
〔論文題目〕 創薬への応用を目指した、計算科学を利用したタンパク質と化合物の相互作用解析 —トランスグルタミナーゼの基質認識機構の解明および、FABP4 とその阻害剤の相互作用解析—			
〔論文審査結果の要旨〕 タンパク質と化合物の相互作用を解析することは、酵素反応論や結合エネルギーの理解のような学術的な興味だけではなく、その酵素を応用して利用する産業界においても非常に重要である。タンパク質と化合物の相互作用を、タンパク質改変により制御することは、医薬品の製造や食品の改質に関わるような産業用酵素の創出につながり、化合物改変により制御することは創薬につながるからである。今回、田上氏は、産業上重要な2種のタンパク質とそのタンパク質が認識する化合物との相互作用を、先端的な計算科学を用いて詳細に解析することで、将来の研究開発での有用性を明確に示すことができた。 標的としたタンパク質のうちの一つはトランスグルタミナーゼ(MTG)であり、抗体医薬品等の医薬タンパク質の可溶性や安定性の向上といった高機能化に使用されているが、結合活性や特異性に問題があり、タンパク質改変が必要とされていた。従来、タンパク質改変はランダム変異導入法で行われてきたが、膨大な実験によるコストと時間がかかることと、ハイスループットな活性評価法の構築が必須であることが課題であった。そこで田上氏は、自社でのX線結晶構造解析から得られたMTGの立体構造を基にした効率的な古典力学的計算手法(コンピュータリガンドドッキングと分子動力学シミュレーション)を用いてMTGタンパク質と化合物の相互作用を詳細に解析した。その結果、基質のGlnの γ -カルボキシアミド基の酸素と、Cys64、Val65の主鎖のアミノ基が水素結合を形成していることから、これらのアミノ酸残基が、酵素反応に必須な反応場(オキシアニオンホール)を形成するアミノ酸残基であることを推定した。更に、MTGの変異実験により、この相互作用モデル構造の妥当性を検証した。すなわち、MD計算中で基質との相互作用回数が多いうアミノ酸残基をAlaに変異した結果、活性が低下することを実験的に示した。このことから、田上氏の得た相互作用モデル構造は信頼性のある構造といえる。また、活性が低下したアミノ酸残基の分布を調べた結果、MTGは比較的広い範囲で基質を認識していることが判明し			

た。以上のことから、本研究で MTG の基質タンパク質の認識機構、反応メカニズムを推定したことは、今後、創薬等の産業応用に有用な MTG の改変体の設計に大いに役立つと考えられる。

もう一方の標的は、脂肪細胞やマクロファージに発現する脂肪酸結合タンパク質アイソフォーム 4 (FABP4) である。糖尿病、動脈硬化症の疾患に関与することが示唆されており、その阻害剤はそれらの疾患治療に有効であると考えられている。これまで報告されている FABP4 阻害剤は活性が低いという問題があったため、より高活性な FABP4 の阻害剤を作るためには、複合体構造を基にした相互作用情報が必要であった。FABP4 と 4 つの阻害剤の複合体の X 線結晶構造は自社で得られていたが、より詳細な情報が必要であったため、田上氏は量子力学に基づいた計算手法 (フラグメント分子軌道法:FMO 計算) を用いて、FABP4 とその阻害剤の相互作用解析を行った。その結果、トータル相互作用エネルギー値が阻害活性の強さと相関していることを見いだした。さらに、フラグメント間相互作用エネルギー (Inter Fragment Interaction Energy) を算出することにより、各アミノ酸残基と阻害剤の相互作用の種類と強さを示すことで、阻害活性の最も大きい化合物の重要相互作用 (Lys58 の主鎖カルボニル酸素との相互作用の有無) を明確に解明し、今後の高活性阻害剤の設計に非常に有用な知見を得ている。このことにより、田上氏の採用した研究手法 (X 線結晶構造解析と FMO 計算) が化合物の高活性化のための分子設計に有効であることが明確に示されている。

このように、田上氏の研究は、構造生物学的実験と適切な計算手法を組み合わせることで、重要なタンパク質と化合物との相互作用を詳細に解明できることを示しており、効率的な産業用タンパク質改変や新薬の効率的な研究開発の実現に大きく貢献するものと考えられる。従って、博士 (薬学) の学位に十分値するものと判断し、学位審査を合格と判定した。

以上