

氏名	岩井 佑磨
授与した学位	博士
専攻分野の名称	薬学
学位記授与番号	博乙 第 4496 号
学位授与の日付	平成 31 年 3 月 25 日
学位授与の要件	博士の論文提出者 (学位規則第 4 条第 2 項該当)
学位論文の題目	小胞型ヌクレオチドトランスポーター (VNUT) の蛍光性アナログを用いた、ヌクレオチド結合に対する塩化物イオンと Arg119 残基の役割の解析
論文審査委員	教授 三好 伸一 (主査) 准教授 古田 和幸 准教授 児玉 進

## 学位論文内容の要旨

小胞型神経伝達物質トランスポーターは、神経伝達において必須な役割を担っている。なかでも SLC17 ファミリーに属する小胞型グルタミン酸トランスポーター (VGLUT) や小胞型ヌクレオチドトランスポーター (VNUT) は、グルタミン酸作動性化学伝達やプリン作動性化学伝達の必須因子として様々な生理現象に深く関わっている。これまでの生化学的な解析から、VGLUT や VNUT が Cl<sup>-</sup>イオンやケト酸によって活性制御が行われていることが解明されている。また、膜貫通領域の保存性荷電残基は基質結合や輸送に重要な役割を果たしている事が多く、実際、VNUT の Arg119 残基は Ala に置換すると活性が消失する事から、輸送に必須な残基として働いている。しかし、Cl<sup>-</sup>イオンやケトン体、必須 Arg119 残基がどのような仕組みで輸送活性を制御しているのかは未知のままであった。

本研究では、Cl<sup>-</sup>イオンやケト酸、必須 Arg119 残基がどのような役割を担っているか、輸送活性の一過程である基質結合に対する影響について検討した。本研究では蛍光性の ATP アナログである TNP-ATP とビオチン化 ATP を用いて検討した。

ケト酸は VNUT に作用し、Cl<sup>-</sup>イオンに対する親和性を低下させる事によって阻害効果を発揮する。本研究により TNP-ATP の結合は Cl<sup>-</sup>イオン、ケト酸によって大きな影響は受けなかった。この事は ATP の結合に Cl<sup>-</sup>イオンが不要である事、ケト酸の作用点が基質結合過程に無い事を示唆している。また、R119A 変異型 VNUT が TNP-ATP を結合した事から、この Arg 残基は基質の結合には重要でない事が示唆された。同様な結果がビオチン化 ATP を用いた化学標識実験でも得られており、Cl<sup>-</sup>イオンや Arg119 残基は基質の結合過程には重要でないことを示唆している。

本研究の成果により、Cl-イオンと Arg119 残基は基質の結合ステップに関わっていない事が示唆された。VGLUT との類似性などから、Arg119 残基や Cl-イオンは ATP を結合した VNUT の外向き／内向き構造変換過程に関わっている可能性が示唆された。

## 論文審査結果の要旨

本論文では、小胞型ヌクレオチドトランスポーター (VNUT) の ATP 輸送における素過程の一つである ATP 結合過程に関して、二種類の ATP アナログ (TNP-ATP, ビオチン-11-ATP) を用いた解析を行っている。ATP 結合過程には塩化物イオンや Arg119 残基が必要であるとの仮説を立て研究を実施したが、研究の結果、この仮説は否定された。しかしながら、どちらの ATP アナログも VNUT の ATP 結合サイトに結合していることを明らかにするなど、新規知見が多く見出されており、当該研究領域の進展には貢献している。

本論文に記載されている内容は、申請者自身の研究結果をまとめたものであり、得られた研究結果は、質と量のいずれにおいても学位論文としての基準を満たしている。また本論文の形態・書式は、関連する専門領域の雑誌の投稿理念や規定に合致している。

以上の理由により、本論文を合格とする。