




学位論文審査並びに最終試験結果報告書

大学院薬学研究科長 殿

主 査： 村 井 毅 副 査： 吉 村 昭 毅 副 査： 青 木 隆 副 査： 小 島 弘 幸 

このたび 鈴木 千幸 にかかわる学位論文審査並びに最終試験を行い下記の結果を得たので報告する。

記

1. 学位論文題目

真菌類 Mevalonate kinase 及び Phosphomevalonate kinase の機能・構造解析

2. 論文要旨 (別 添)

3. 学位論文審査の要旨

現在、臨床で利用される各種抗真菌薬は、耐性菌の出現、薬物相互作用など様々な問題点が指摘されており、新規抗真菌薬の開発が求められている。真菌のメバロン酸経路におけるホスホメバロン酸キナーゼ (PMK) である Erg8p は、ヒト PMK (*h*PMK) と同等の生物学的役割を持つが、配列及び構造の相同性が存在しないため、Erg8p に特異的な阻害剤の開発が可能と期待される。しかし、本酵素に関する機能解析、立体構造に関する研究報告は極めて少ない。本研究では Erg8p に特異的な阻害剤の設計に有用な情報を提供することを目的に、本酵素の機能解析並びに X 線結晶構造解析による立体構造の決定、基質認識の詳細について検討した。まず、大腸菌組換え発現系と各種クロマトグラフィーを利用し、4 種の真菌由来 Erg8p と各種関連酵素として、真菌メバロン酸キナーゼ (Erg12p)、*h*PMK、ヒトメバロン酸キナーゼ (*h*MK) の大量調製法 (数 mg~数十 mg スケール) を確立した。これら酵素の的確な活性測定法の開発を行い、速度論的特徴について検討した。その結果、Erg8p は、その基質である (*R*)-メバロン酸 5-リン酸 (*R*-mev5p) と ATP に対して同程度の親和性を示し、Erg12p では、(*R*)-メバロン酸に比して ATP への親和性は低いことを明らかにした。また、これら真菌類酵素の速度論的パラメーターは、*h*PMK、*h*MK の場合と大きく異なることを明らかにした。続いて、LC-MS/MS 法による Erg8p、Erg12p の定量ターゲットプロテオーム解析法について検討し、fmol~pmol レベルの定量分析法の開発に成功した。さらに、Erg8p (*Saccharomyces cerevisiae* 由来) の結晶化法を確立し、X 線結晶構造解析からアポ体並びにリガンド結合状態が異なる数種類の複合体の立体構造を決定した。これらの解析結果より Erg8p の *R*-mev5p、ATP に対する認識機構の詳細を明らかにした。今後、これらの知見が、Erg8p の阻害剤開発の進展に大きく寄与し、*h*MK 欠損症の診断・病態解析法にも繋がるものと期待される。

4. 最終試験の要旨

得られた測定結果を多角的に解析し論文に詳述しており、博士論文研究発表会における発表並びに口頭試問における質疑応答も適切であったことから、博士 (薬学) の学位取得に十分な学力を有するものと認められる。

以上の結果 鈴木 千幸 は博士 (薬学) の学位を授与する資格の

ある

ない

ものと判定する。

以上