

別紙 1 - 1

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第 号
------	---------

氏 名 白瀧 千夏子

論 文 題 目

Finding of New Functions of Heme Proteins Based on Crystal Structures
(結晶構造を基にしたヘムタンパク質の新規機能の創出)

論文審査担当者

主査 名古屋大学物質科学国際研究センター 教授 理学博士 渡辺 芳人

委員 名古屋大学大学院理学研究科 教授 博士(工学) 田中 健太郎

委員 名古屋大学物質科学国際研究センター 准教授 博士(理学) 田村 康

論文審査の結果の要旨

別紙 1-2

申請者は、本来酵素活性を持たない酸素貯蔵蛋白質のミオグロビンに、高い酵素活性を付与する研究を進める過程で、1-メトキシナフタレンのナフタレン環が、クロロペルオキシダーゼのヘム近傍構造を再現したミオグロビン変異体によって水酸化可能であることを見出した。また、1-メトキシナフタレンの水酸化反応では、ラシックブルーと呼ばれる可視光領域に強い吸収を持つ生成物が生成されるため、吸収スペクトル測定により簡便に酵素活性の評価が可能であることを示した。さらに、カチオン性の側鎖を有するアルギニンをミオグロビンのヘム近傍に導入すると、カルボキシル基を有する基質に対してのみ、基質の配向制御部位として機能し、その酸化活性が向上することも明らかにしている。申請者は、変異導入によるミオグロビンの機能改変だけでなく、ヘム蛋白質のヘムを人工金属錯体で置換することによる新たな機能創出にも成功している。緑膿菌が、鉄分の獲得を目的として分泌すると呼ばれるヘム獲得蛋白質 **HasA** は、宿主のヘム（鉄ポルフィリン錯体）を捕捉するための蛋白質であるが、申請者は、**HasA** が鉄サロフェンや鉄フタロシアニンなどのヘムとは構造が大きくことなる合成金属錯体を捕捉可能であることを明らかにした。また、結晶構造解析により、鉄サロフェンと鉄フタロシアニンを捕捉した **HasA** の構造を原子レベルで明らかにすることにも成功し、これらの人工金属錯体を捕捉した **HasA** の構造は、ヘムを捕捉した **HasA** とほとんど変わらないことを明らかにした。そして、鉄フタロシアニンを結合した「偽の **HasA**」を鉄制限状態の緑膿菌に作用させると、緑膿菌のヘム獲得を阻害することでその増殖を高度に抑制できることを明らかにしている。さらに、申請者は、様々な条件での阻害実験から、「偽の **HasA**」自体には毒性はなく、**HasA** を介するヘムの取り込みを阻害することで緑膿菌の増殖が抑制されていることを実証した。緑膿菌は、多剤耐性緑膿菌の出現が問題となっている院内感染の原因菌で、新たな作用機序の殺菌法の開発が待ち望まれているが、申請者の開発した「偽の **HasA**」により緑膿菌の鉄の獲得を阻害してその増殖を抑制する手法は、従来の抗生剤とは全く異なる仕組みで緑膿菌の増殖を阻害することができる。本研究で得られた知見は、緑膿菌のヘム獲得システムのさらなる理解に貢献するだけでなく、多剤耐性緑膿菌を従来の抗生剤を利用することなく殺菌する実用的な仕組みの開発に繋がる研究成果と考えられる。これまでに、蛋白質と合成金属錯体を複合化した人工金属蛋白質の研究は数多く報告されているが、物質変換を行う人工酵素の開発が主流であって、触媒反応以外の機能を示した例は非常に少ない。人工酵素開発とは全く異なる視点で研究を展開し、緑膿菌の増殖を阻害する人工蛋白質を開発した独創的な研究は高く評価できる。以上の理由により、申請者は博士(理学)の学位を授与される十分な資格があるものと認められる。