

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 榊 原 え り か

論 文 題 目

Development of Heme Acquisition Proteins Capturing Artificial Metal
Complexes and Investigation of Their Functions

(人工金属錯体を捕捉したヘム獲得蛋白質の創出および機能開拓)

論文審査担当者

主 査 名古屋大学大学院理学研究科 教授 博士(工学) 荘司長三

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 理化学研究所 専任研究員 博士(理学) 杉本宏

委 員 名古屋大学大学院理学研究科 准教授 博士(工学) 愛場雄一郎

論文審査の結果の要旨

別紙 1 - 2

申請者は、人工補因子としてこれまでに活用されたことのない合成金属錯体を、ヘム蛋白質に導入させ、新規機能の発現に成功した。4つのフェニル基を有する嵩高い金属錯体を、緑膿菌が分泌するヘム蛋白質 **HasA** に捕捉させることで、(1) ヘム獲得経路の遮断による増殖抑制、(2) 光増感剤の送達による光線力学的療法、(3) 結晶中での立体選択的な触媒反応、を達成した。さらに、合成金属錯体を内包できるヘム蛋白質の拡張とヘム輸送機構の調査を目指し、合成金属錯体を捕捉した **PhuT** の構築とその受容体に関する研究も報告した。

テトラフェニルポルフィセン錯体を捕捉した人工 **HasA** の構築を達成し、結晶構造から、ヘム結合部位の周辺に位置するループ構造が十分な柔軟性をもち、捕捉する錯体に応じて適切に結合部位を形成できるために、嵩高い金属錯体を捕捉できることを明らかにした。ループの構造変化は、**HasA** と **HasA** の受容体である **HasR** の相互作用には影響を与えず、テトラフェニルポルフィセン錯体を捕捉した人工 **HasA** は **HasR** と相互作用し、緑膿菌の増殖抑制剤として機能することも実証した。人工補因子としてテトラフェニルポルフィリン錯体 (**TPP** 錯体) を捕捉した人工 **HasA** (**TPP-HasA**) の機能に関する研究では、各種 **TPP** 金属錯体を捕捉した **HasA** が、(1) ヘム獲得経路の遮断による増殖抑制 (静菌作用) と (2) 光増感剤の送達による光殺菌による 2 つの作用機序で緑膿菌を不活化するツールとして有効であることを明らかにした。さらに、抗菌効果にとどまらない機能を見出すために、**TPP-HasA** の結晶構造に基づく変異体設計を行った。**TPP** 錯体のフェニル基との立体反発を解消するために 37 番目のバリンをグリシンに変異させた **HasA(V37G)** は、**HasA** のループ構造の柔軟性がさらに向上し、結晶中での直線的な蛋白質の集合をもたらした。結晶中の **TPP** 錯体は、反応点となる金属の空配座が確保された状態であり、立体選択的なカルベン挿入反応を達成する触媒として機能することを見出した。

ヘム結合蛋白質 **PhuT** を対象とした検討では、ヘムを除去した **PhuT** の調製手法を確立し、**PhuT** がヘム類似錯体に加え、鉄フタロシアニンを捕捉できることを明らかにした。結晶構造解析とドッキングシミュレーションから、**PhuT** のヘム結合部位は十分に広く、これらの合成金属錯体を内包できることを示唆する結果を得た。さらに、人工 **PhuT** を用いたヘム輸送機構の調査に向けて、**PhuT** の受容体 **PhuUV** の発現を試みた。大腸菌などのバクテリアを宿主とした発現系では **PhuUV** の発現は確認できなかったため、コムギ胚芽由来の無細胞発現系を用いた検討を行い、**PhuUV** の発現を達成した。

本報告で、新たに **HasA** の人工補因子として利用可能となった合成金属錯体は、置換基導入や誘導化によって錯体の特性を容易にコントロールできるため、本研究成果を足掛かりとした **HasA** の多機能化につながると期待される。また、合成金属錯体を内包できるヘム蛋白質 **PhuT** に関する検討も含めた本報告の研究成果は、ヘムと異なる構造を持つ合成金属錯体を補因子とするヘム置換戦略によるヘム蛋白質の機能改変をさらに加速させる研究成果と言える。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質があるものと認められる。