OUKA
Osaka University Knowledge Archive

Title	Studies on Expression of Protein Functions by Photochemical Regulation of the Structure
Author(s)	中山, 公志
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45888
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

Osaka University

氏名	中山公志（なかやまこうじ）
博士の専攻分野の名称	博士（工学）
学位記番号	第 19451 号
学位授与年月日	平成17年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 工学研究科分子化学専攻
学位論文名	Studies on Expression of Protein Functions by Photochemical Regulation of the Structure （タンパク質構造の光化学的制御による機能発現に関する研究）
論文審査委員	（主査） 教授 真嶋 哲朗 （副査） 産業科学研究所教授 谷澤 克行　教授 茶谷 直人 教授 井上 佳久　教授 明石 満　教授 馬場 章夫 教授 神戸 宣明　教授 黒澤 英夫　教授 松林 玄悦 教授 安蘇 芳雄　教授 田中 稔

論文内容の要旨

本論文は、光照射によってタンパク質の機能が発現されるように分子設計された光機能性タンパク質の合成方法と光機能性タンパク質の光化学反応による機能発現と構造制御についてまとめたものであり、緒言、本論4章、総括から構成されている。本研究では、DNA を位置選択的に加水分解する制限酵素 *Bam*HI およびアポトーシスを誘導する caspase-3 について、わずか1分子の光反応性分子を位置特異的にこれらのタンパク質に修飾することにより、タンパク質の光機能化を試みた。

緒言では、本研究の背景、目的と意義、および研究内容の概略について記述した。特に、光を外部刺激とすることで、人工的にかつ強制的にタンパク質－タンパク質相互作用を光化学的に制御して、そのタンパク質固有の機能を発現させるという全く新しい手法の開発について、その重要性および将来性を詳細に述べた。

第1章では、光脱離性置換基として 6-nitroveratryl 基を *Bam*HI の二量体形成に重要とされる位置（Lys132）に特異的に導入して、さらに His133 を Ala に置換した光機能性 *Bam*HI を有機化学および生化学的手法により合成した。光照射前は光機能性 *Bam*HI の活性が阻害されているが、光照射を行って光脱離性置換基を脱離させたところ、その機能が発現することが明らかになった。

第2章では、光異性化アミノ酸として *trans*-phenylazophenylalanine を *Bam*HI の二量体形成に重要とされる位置に導入した光機能性 *Bam*HI を合成した。かさ高い *trans* 体の導入によって wild-type と同様の二量体形成が阻害されていると考えられるために、その機能発現が抑制されることが確認された。一方、分子サイズの小さい *cis* 体に光異性化させたところ、wild-type と同様の二量体形成に伴ってその機能が発現することが明らかになった。

第3章では、親水性および光異性化反応性を示す新規化合物 4'-carboxyphenylazophenylalanine の有機合成を行って、それを *Bam*HI に位置特異的に導入させた光機能性 *Bam*HI の合成を行った。第2章と同様にして、導入された分子の光異性化反応によって、その機能発現の光化学的制御に成功した。

第4章では、光反応性アミノ酸として 2-nitrophenylglycine を caspase-3 の特定の位置（Ser176）に導入した光機

能性 caspase-3 の合成を行った。光照射によって位置特異的なペプチド結合の切断によって、最終的に活性を示す4量体を形成して、その機能を発現させることに成功した。

総括では、得られた主要な成果とその意義をまとめ、本研究の将来性について記述した。

論文審査の結果の要旨

本論文は、光照射によってタンパク質の機能が発現されるように分子設計された光機能性タンパク質の合成方法と、光機能性タンパク質の光化学反応による機能発現と構造制御についてまとめたものである。本論文では、DNA を位置選択的に加水分解する制限酵素 *Bam*HI およびアポトーシスを誘導する caspase-3 について、わずか1分子の光反応性分子を位置特異的にこれらのタンパク質に修飾することにより、タンパク質の光機能化を試みている。本論文で得られた主な成果を要約すると以下のとおりである。(1)光脱離性置換基として 6-nitroveratryl 基を *Bam*HI の二量体形成に重要とされる位置（Lys132）に特異的に導入し、さらに His133 を Ala に置換した光機能性 *Bam*HI を有機化学および生化学的手法により合成し、光照射前では光機能性 *Bam*HI の活性が阻害されているが、光照射を行い光脱離性置換基を脱離させるとその機能が発現することを明らかにしている。(2)光異性化アミノ酸として *trans*-phenylazophenylalanine を *Bam*HI の二量体形成に重要な位置に導入した光機能性 *Bam*HI を合成し、かさ高い *trans* 体の導入による二量体形成の阻害に起因する機能抑制と、分子サイズの小さい *cis* 体への光異性化による機能発現を明らかにしている。(3)親水性および光異性化反応性を示す新規化合物 4'-carboxyphenylazophenylalanine を導入した光機能性 *Bam*HI の合成を行い、導入された分子の光異性化反応によって、その機能発現の光化学的制御を明らかにしている。(4)光反応性アミノ酸として 2-nitrophenylglycine を caspase-3 の特定の位置（Ser176）に導入した光機能性 caspase-3 の合成を行い、光照射によって位置特異的なペプチド結合の切断を実現し、最終的に活性を示す4量体を形成させることで、その機能を発現させることができることを明らかにしている。以上のように、本論文は、光を外部刺激とすることで、人工的にかつ強制的にタンパク質－タンパク質相互作用を光化学的に制御し、そのタンパク質固有の機能を発現させるという全く新しい手法を開発したものであり、分子生物化学の発展に大きく貢献するものと考えられる。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。