The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Construction of protein conjugates with a semiconductor quantum dot or a metal complex toward the development of ybrid biocatalysts
Author(s)	氷見山, 幹基
Citation	大阪大学, 2016, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/55917
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（　　氷見山　幹基　　）	
論文題名	Construction of protein conjugates with a semiconductor quantum dot or a metal complex toward the development of hybrid biocatalysts （ハイブリッド生体触媒の開発を指向した半導体量子ドット・金属錯体とタンパク質の複合体構築）

論文内容の要旨

タンパク質と合成分子の複合化により得られる触媒は、ハイブリッド生体触媒として注目されており、タンパク質内に精密配置されたアミノ酸残基により高選択的な反応を実現している。ハイブリッド生体触媒は大きく分けて三種類に分類される。第一に、人工の活性化分子とタンパク質を複合化した触媒系である。活性化分子の修飾によって有用なタンパク質機能を効率的に発現し、高活性な触媒系の構築が可能となる。第二に、人工金属酵素と呼ばれる人工の金属錯体触媒をタンパク質骨格に導入した触媒系である。天然の酵素が利用できない組成・構造を有する金属錯体をタンパク質に複合化することにより、酵素にはない多様な反応性を付与することが可能である。第三に、基質結合部位を導入したタンパク質反応場を利用する触媒系である。基質と特異的に相互作用可能な部位をタンパク質に複合化することで人工的なタンパク質反応場の構築が可能となる。

本著者は上記三種類のハイブリッド生体触媒を指向して、タンパク質と様々な合成分子・材料を複合化することで機能の融合を図った。機能を融合した複合体として、ヘムタンパク質の補因子修飾による半導体量子ドット（QD）との複合体（第一章、第二章）、バレル型タンパク質との共有結合を介した金属錯体との複合体（第三章）、およびタンパク質反応場を指向したバレル型タンパク質と基質結合部位の複合体（第四章）を構築した。

第一章では、効率的なヘムタンパク質機能の発現をめざし、チオール基の配位を利用したミオグロビン（Mb）とCdTe QDの複合体構築を行った。Mb–CdTe QD複合体は、補因子修飾によりチオール部位を導入したMbとCdTe QDの混合により調製した。得られた複合体では、CdTe QDからMbへの電子移動反応が、天然Mbを混合した系と比較して６倍以上に向上することを示し、効率的な電子移動反応によるMbの機能発現を達成した。

第二章ではMb–CdTe QD複合体を形成するために、Mbの補因子ヘム側鎖に導入したアダマンチル基とCdTe QDに表面修飾したβ-シクロデキストリン間のホスト―ゲスト相互作用を活用した。この超分子複合体の形成によって、低濃度条件においても電子移動反応速度の向上が実現した。

第三章ではテルピリジン金属錯体をニトロバインディン（NB）内部に担持することにより、アザカルコンとシクロペンタジエンのDiels-Alder反応を加速する人工金属酵素を構築した。NBの疎水性空孔による基質との相互作用により、NBに担持した錯体触媒の活性向上を達成した。

第四章ではNB空孔を化学修飾によって改変し、不斉Diels-Alder反応を触媒するタンパク質反応場構築を行った。NB空孔へのピレンの化学修飾により、基質とピレンが相互作用して立体選択性を発現する複合体NB–Pyrの構築を達成した。さらに、NB変異体の利用により、反応選択性の最適化が可能となった。分光学的知見と計算化学を組み合わせ、NB–Pyr内でピレンに２種類の結合様式が存在し、Diels-Alder反応の立体選択性と相関していることが示された。

以上、本著者はハイブリッド生体触媒の構築をめざし、タンパク質と機能分子の複合化を行った。今後、これらを活用して、ヘムタンパク質を用いた光触媒系、タンパク質を活用した立体選択的反応場の構築が期待される。

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（　氷見山　幹基　）			
論文審査担当者		（職）	氏　名
	主 査	教授	林　高史
	副 査	教授	井上　豪
	副 査	教授	町田　憲一
	副 査	教授	南方　聖司
	副 査	教授	宇山　浩
	副 査	教授	今中　信人
	副 査	教授	桑畑　進
	副 査	教授	櫻井　英博
	副 査	教授	古澤　孝弘
	副 査	教授	Jun Okuda　(RWTH Aachen University)

論文審査の結果の要旨

タンパク質と合成分子の複合化により得られる触媒は、ハイブリッド生体触媒として注目されており、タンパク質内に精密配置されたアミノ酸残基により高選択的な反応を実現している。ハイブリッド生体触媒は大きく分けて三種類に分類される。第一に、人工の活性化分子とタンパク質を複合化した触媒系である。活性化分子の修飾によって有用なタンパク質機能を効率的に発現し、高活性な触媒系の構築が可能となる。第二に、人工金属酵素と呼ばれる人工の金属錯体をタンパク質骨格に導入した触媒系である。天然の酵素が利用できない組成・構造を有する金属錯体のタンパク質への複合化は、酵素では見られない多様な反応や選択性を導く触媒の開発につながる。第三に、基質結合部位を導入したタンパク質反応場を利用する触媒系である。基質と特異的に相互作用可能な部位をタンパク質に複合化することで人工的なタンパク質反応場の構築が可能となる。

本研究では上記三種類のハイブリッド生体触媒を指向して、タンパク質と様々な合成分子・材料を複合化することで機能の融合を図っている。機能を融合した複合体として、ヘムタンパク質の補因子修飾による半導体量子ドット（QD）との複合体（第一章、第二章）、バレル型タンパク質との共有結合を介した金属錯体との複合体（第三章）、およびタンパク質反応場を指向したバレル型タンパク質と基質結合部位の複合体（第四章）を構築している。

第一章では、効率的なヘムタンパク質機能の発現をめざし、チオール基の配位を利用したミオグロビン（Mb）と CdTe QD の複合体構築を行っている。Mb–CdTe QD 複合体は、補因子修飾によりチオール部位を導入した Mb と CdTe QD の混合により調製している。得られた複合体では、CdTe QD から Mb への電子移動反応が、天然 Mb を混合した系と比較して６倍以上に向上することを示し、効率的な電子移動反応による Mb の機能発現を達成している。

第二章では Mb–CdTe QD 複合体を形成するために、Mb の補因子ヘム側鎖に導入したアダマンチル基と CdTe QD に表面修飾したβ-シクロデキストリン間のホスト―ゲスト相互作用を活用している。この超分子複合体の形成によって、低濃度条件においても電子移動反応速度の向上が実現している。

第三章ではテルピリジン金属錯体をニトロバインディン（NB）内部に担持することにより、アザカルコンとシクロペンタジエンの Diels-Alder 反応を加速する人工金属酵素を構築している。NB の疎水性空孔による基質との相互作用により、NB に担持した錯体触媒の活性向上を達成している。

第四章では NB 空孔を化学修飾によって改変し、不斉 Diels-Alder 反応を触媒するタンパク質反応場構築を行っている。NB 空孔へのピレンの化学修飾により、基質とピレンが相互作用して立体選択性を発現する複合体 NB–Pyr の構築を達成している。さらに、NB 変異体の利用により、反応選択性の最適化が可能となっている。分光学的知見と計算化学を組み合わせ、NB–Pyr 内でピレンに２種類の結合様式が存在し、Diels-Alder 反応の立体選択性と相関していることが示されている。

結言では、第一章から第四章を総括するとともに、本論文の成果をふまえ、今後、タンパク質の特異な反応場を活

用した魅力的な物質変換を可能にするハイブリッド生体触媒の構築が期待されることを記述している。

以上のように、本論文はタンパク質と人工の活性化分子、金属錯体触媒、基質結合部位を複合化することにより、機能の融合に基づくハイブリッド生体触媒の構築が可能であることを示している。

よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。