



Title	Artificial Protein Assemblies Formed by Specific Interprotein Interactions via Heme Derivatives
Author(s)	大洞, 光司
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/59156
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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名	大 洞 光 司
博士の専攻分野の名称	博 士 (工学)
学 位 記 番 号	第 24926 号
学 位 授 与 年 月 日	平成23年9月20日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 工学研究科応用化学専攻
学 位 論 文 名	Artificial Protein Assemblies Formed by Specific Interprotein Interactions via Heme Derivatives (ヘム誘導体を介した特異的なタンパク質間相互作用によって形成する人工的なタンパク質集合体に関する研究)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 林 高史 (副査) 教 授 宇山 浩 教 授 南方 聖司 教 授 井上 豪 教 授 今中 信人 教 授 大島 巧 教 授 桑畑 進 教 授 平尾 俊一 教 授 町田 憲一 教 授 安藤 陽一 教 授 古澤 孝弘

論 文 内 容 の 要 旨

近年、タンパク質を構成要素とする巨大組織体を用いた新規のバイオマテリアル開発が注目を集めており、本論文では、その足がかりとして実施したタンパク質のボトムアップ的な集積化に関する研究について記述した。本研究では、タンパク質の中でも機能と構造がよく明らかになっているヘムタンパク質を構成要素として選択し、ヘムタンパク質におけるヘムとタンパク質の可逆な結合・脱離挙動をタンパク質集積化の相互作用として利用し、ヘムタンパク質の超分子的な集合体の構築および機能化を達成した。

まず第一章で、単純なヘムタンパク質の一つであるシトクロムb₅₆₂を用いたヘムタンパク質集合体の調製について記述した。具体的には、新規に設計・合成したヘム誘導体をタンパク質表面に部位特異的かつ共有結合的に導入し、その後、余剰のヘムを酸性条件下で除去、続いて中和することで、ヘムとタンパク質マトリクスの相互作用による自発的な集合体の形成を促した。種々の分析法から数百nmに達する線状集合体の形成が示され、またその集合や解離がタンパク質自身の濃度、温度等に可逆に応答することが明らかになった。

次に第二章で、上記の手法を酸素貯蔵ヘムタンパク質であるミオグロビンに適用し、タンパク質に特異な性質を有する集合体構築に関して記載した。前述の系と同様にして得られた線状集合体は、ミオグロビンの性質に起因して以下の三つの性質を示した。(i)一酸化

炭素などの小分子により安定性が制御可能。(ii)過酸化水素を添加するだけで酸化反応を介して共有結合的に架橋した三次元網目状構造体を形成可能。(iii)線状集積化後および架橋後もミオグロビンの本来の機能である酸素の可逆な結合が可能。

さらなる展開として、第三章で、別のタンパク質との集積化について述べた。ミオグロビンに加え、ストレプトアビジンを構成要素とし、新規に合成したヘム誘導体を用いて集合体構築を試みた。結果として、ストレプトアビジンとミオグロビンの二量体が交互に並んだ線状集合体の構築を達成し、原子間力顕微鏡を用いて二種のタンパク質が交互に整列していることを示した。

最後に、結言にて、以上に示したヘムタンパク質の特異な性質を有する集合体、および他のタンパク質と組み合わせた周期構造を持つ集合体の構築について総括し、今後の展望および応用の可能性について記述した。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

近年、タンパク質を構成要素とする巨大組織体を用いた新規のバイオマテリアル開発が注目を集めており、本論文は、その足がかりとなるタンパク質のボトムアップ的な集積化に関する研究について記述されている。本研究では、タンパク質の中でも機能と構造が明らかになっているヘムタンパク質を構成要素として用いている。ヘムタンパク質におけるヘムとタンパク質の可逆な結合・脱離挙動をタンパク質集積化の相互作用として利用し、ヘムタンパク質の超分子的な集合体の構築を達成しており、さらに種々の測定法を用いて構造や熱力学的挙動の解析および酸素の親和性等を評価している。

第一章では、単純なヘムタンパク質の一つであるシトクロムb₅₆₂を用いたヘムタンパク質集合体の調製について述べている。新規に設計・合成したヘム誘導体をタンパク質表面に共有結合的に導入し、その後、余剰のヘムを酸性条件下で除去、続いて中和することで、ヘムとタンパク質マトリクスの相互作用による自発的な集合体の形成を促し、集合体調製を実現している。得られた集合体は、原子間力顕微鏡等の分析法から数百nmに達する繊維状構造を有していることを示し、またその集合や解離がタンパク質自身の濃度、温度等に可逆に応答することを明らかにしている。

次に第二章では、上記の手法を酸素貯蔵ヘムタンパク質であるミオグロビンに適用し、タンパク質に特異な性質を有する集合体の構築について論じている。第一章の系と同様にして得られた線状集合体は、サイズ排除クロマトグラフィー、電子顕微鏡や分光光学測定等を用いて評価した結果、ミオグロビンの性質に起因して、一酸化炭素などの小分子により安定性が制御可能、過酸化水素を添加にとまう酸化反応を介して共有結合的に架橋した三次元網目状構造体を形成可能、線状集積化後および架橋後もミオグロビンの本来の機能である酸素の可逆な結合が可能、という特徴的な性質を有することを示している。

第三章では、ミオグロビンと異種タンパク質ストレプトアビジンとの共集合体についての構築を達成している。具体的には、ストレプトアビジンの基質であるビオチン二分子とヘム一分子を適したリンカーを介して共有結合的に連結した合成補因子を調製し、それを介してストレプトアビジンとミオグロビン二量体が交互に並んだ線状集合体の作製を試み、原子間力顕微鏡を駆使して二種のタンパク質の自己組織的交互集合体形成を証明している。

以上のように、本論文は、新規バイオマテリアルの開発を指向したヘムタンパク質の特異な性質を有する集合体および他のタンパク質と組み合わせた周期構造を持つ集合体の構築について達成し、実施された種々の評価について詳しく議論している。

よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。