

Title	Construction of Multidimensional and Hierarchical Hemoprotein Assemblies on Substrate Surfaces
Author(s)	柿倉, 泰明
Citation	大阪大学, 2013, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/59917">https://hdl.handle.net/11094/59917</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名	柿 倉 泰 明
博士の専攻分野の名称	博士(工学)
学位記番号	第 26161 号
学位授与年月日	平成25年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 工学研究科応用化学専攻
学位論文名	Construction of Multidimensional and Hierarchical Hemoprotein Assemblies on Substrate Surfaces (基板上における多次元および階層状ヘムタンパク質集合体の構築に関する研究)
論文審査委員	(主査) 教授 林 高史 (副査) 教授 南方 聖司 教授 井上 豪 教授 宇山 浩 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、バイオデバイスを指向して、基板上でのタンパク質の配列および積層化が試みられている。本論文ではその足掛かりとして基板上にタンパク質の集合体を構築する研究について記述した。本研究では、構成単位となるタンパク質としてヘム分子と特異的な相互作用を示すヘムタンパク質を用いた。ヘム分子を人工的にヘムタンパク質表面に共有結合で修飾し、ヘムタンパク質間に特異的な相互作用を誘起することで、2次元状または階層状ヘムタンパク質集合体を基板上に構築した。

第2章では、直鎖状ヘムタンパク質と、要分子を用いた2次元ヘムタンパク質ネットワークを基板上に構築する手法と、それらの集合挙動について記述した。ヘムタンパク質表面に合成ヘムを部位特異的に修飾し、余剰のヘムを除去してモノマーユニットを調製した。顕微鏡観察の結果、合成ヘムとタンパク質マトリックス間での相互作用による直鎖構造の形成を確認した。モノマーユニットに対して、分岐点の役割をする要分子であるヘム3量体分子を添加すると、多数の枝分かれ構造を有する2次元ネットワークが構築された。さらにモノマーユニットと要分子の比率を変化させると、ネットワークのモルフロジーが大きく変化することを明らかにした。

第3章では、金基板上に修飾したヘム分子を起点として直鎖状ヘムタンパク質集合体を固定することで、階層状に積層したヘムタンパク質集合体の構築と特性について記述した。種々の分析法から、ヘムタンパク質集合体が電極表面に対して垂直方向に構築されていること、ヘム分子由来のレドックス特性を保持していることを示した。

第4章では、第3章の手法を応用して、光励起に基づく光電流発生が可能であるタンパク質集合体を電

極上に構築し、積層化が光電変換特性に与える影響について論じた。ヘムタンパク質集合体中のヘム分子の中心原子を鉄から亜鉛に置換したヘムタンパク質集合体を調製し、これを金電極上へ修飾した。これらの電極を用いてカソード方向への光電流発生実験を行ったところ、単層の亜鉛置換タンパク質を修飾した電極を用いた場合に比べて最大で5.2倍の光電流を観測した。したがって、亜鉛置換ヘムタンパク質の積層化によって、光電変換効率が向上したことを実証した。

最後に、第5章で特異的相互作用を介したヘムタンパク質集合体の基板上での構築について総括し、集合化したタンパク質をベースとしたマテリアルやデバイスの展開や応用への可能性について記述した。

## 論文審査の結果の要旨

近年、バイオデバイスを指向して、基板上でのタンパク質の配列および積層化が試みられている。本論文ではその足掛かりとして基板上にタンパク質の集合体を構築する研究について記述している。本研究では、構成単位となるタンパク質として、ヘム分子を補因子として特異的に結合するヘムタンパク質を用いている。具体的にはヘム分子を人工的にヘムタンパク質表面に共有結合で修飾し、ヘムタンパク質間に特異的な相互作用を誘起することで、2次元状または階層状ヘムタンパク質集合体を基板上に構築することを試みている。

まず、第1章では、本研究の背景、関連研究の紹介、実施した研究の意義及び本論文の概要について論じている。

第2章では、直鎖状ヘムタンパク質と、要(かなめ)分子を用いた2次元ヘムタンパク質ネットワークを基板上に構築する手法と、それらの集合挙動について論じている。ヘムタンパク質表面に合成ヘムを部位特異的に修飾し、余剰のヘムを除去してモノマーユニットを調製し、これを顕微鏡観察したところ、合成ヘムとタンパク質マトリックス間での相互作用による直鎖構造を形成することを確認している。特に、モノマーユニットに対して、分岐点の役割をする要分子であるヘム3量体分子を添加すると、多数の枝分かれ構造を有する2次元ネットワークが構築され、さらにモノマーユニットと要分子の比率を変化させると、ネットワークのモルフォロジーが大きく変化することを明らかにしている。

第3章では、金基板上に修飾したヘム分子を起点として直鎖状ヘムタンパク質集合体を固定することで、階層状に積層したヘムタンパク質集合体の構築と特性について記述している。種々の分析法から、ヘムタンパク質集合体が電極表面に対して垂直方向に構築されること、およびヘム分子由来のレドックス特性を保持することを示している。

第4章では、第3章の手法を応用して、光励起に基づく光電流発生が可能であるタンパク質集合体を電極上に構築し、積層化が光電変換特性に与える影響について論じている。ヘムタンパク質集合体中のヘム分子の中心原子を鉄から亜鉛に置換したヘムタンパク質集合体を調製し、これを金電極上へ修飾した。これらの電極を用いてカソード方向への光電流発生実験を行ったところ、単層の亜鉛置換タンパク質を修飾した電極を用いた場合に比べて最大で5.2倍

の光電流を観測しており、亜鉛置換ヘムタンパク質の積層化によって、光電変換効率が向上したことを実証している。

最後に、第5章で特異的相互作用を介したヘムタンパク質集合体の基板上での構築について総括し、集合化したタンパク質をベースとしたマテリアルやデバイスの展開や応用への可能性について記述している。

以上のように、本論文は、基板上における多次元および階層状タンパク質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を展開している。

よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。