

Title	Supramolecular Assemblies of a Hexameric Hemoprotein Engineered by Chemical Modifications
Author(s)	平山, 翔太
Citation	大阪大学, 2020, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/76521
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

論 文 内 容 の 要 旨

氏 名 (平 山 翔 太)

論文題名

Supramolecular Assemblies of a Hexameric Hemoprotein Engineered by Chemical Modifications
(化学修飾を施した六量体ヘムタンパク質の超分子集合体に関する研究)

論文内容の要旨

生体内には DNA や脂質、糖、タンパク質等に代表される様々な生体分子が存在しており、それらは集合体を形成することで、生命現象の鍵となる多様な機能を発現している。中でも、特にタンパク質の集合体は多岐にわたる生体内反応の大部分を担っており、またその多くが、特徴的な機械的特性・動的特性を示すことから、構造と機能の評価が精力的に行われている。このような天然のタンパク質集合体に着想を得たタンパク質人工集合体の構築に関する研究が、この 20 年程の間に数多く報告されてきた。タンパク質人工集合体は、ビルディングブロックとして様々な機能性タンパク質の利用が可能であり、その構造多様性や生体適合性等から、新規ソフトマテリアルとしての応用が期待されている。

これまでのタンパク質人工集合体の構築に関する報告の幾つかは、ビルディングブロックとしてヘムタンパク質を用いている。ヘムタンパク質はその補因子としてポルフィリン鉄錯体(ヘム)を有し、様々な生体内機能を司る魅力的なタンパク質群である。これまでの例ではシトクロム等の単量体ヘムタンパク質がビルディングブロックとして使われてきた。これらは分子量が小さく、扱いやすい一方で、対称性が低いため高次構造を有する集合体の設計が困難である。そこで本申請者は対称性の高い環状六量体構造を有するヘムタンパク質である Hexameric Tyrosine-coordinated Heme Protein (HTHP) をビルディングブロックとして、その表面への様々な分子の化学修飾により、HTHP の対称性を活用した多様な構造のタンパク質人工集合体を構築し、その構造および機能の評価を行った。

第一章では、これまでほとんど報告例のなかった超分子相互作用の多点的利用によるタンパク質人工集合化を実施した。多環式芳香族分子であるピレンの修飾によりピレン間のスタッキングを多点的に利用して HTHP が積み重なる様式で、六量体構造の超分子二量化を達成した。また分光学的手法を用いて、集合化が設計通りのピレン間相互作用に起因することを示した。加えて、この集合体がヘム分子の有無による、特徴的な化学種応答的集合解離挙動を示すことを明らかにした。

第二章では、ホストゲスト相互作用を利用したタンパク質の二次元集合体構築を実施した。ゲスト分子である FGG トリペプチドを HTHP に修飾し、これを二分子選択的に取り込むホスト分子であるクルビット[8]ウリルを添加することで、ホストゲスト錯体の形成に伴うタンパク質シート状集合体構築を実施した。集合体の構造および集合挙動がペプチド修飾位置に依存して大きく異なることを示すとともに、シート状集合体を形成したものについて、その形成過程を高速原子間力顕微鏡(HS-AFM)により直接観察した。

第三章では、熱応答性高分子であるポリ(*N*-イソプロピルアクリルアミド)の修飾により、熱応答的なミセル様タンパク質集合体の構築を行った。動的光散乱法やHS-AFMにより、得られた集合体が設計通りのミセル様構造を有することを示した。さらに集合体を構成する HTHP の環状構造と、構築したミセル様集合体の球状構造の二つの構造的特徴に着目し、集合体の応用研究を実施した。集合体中のタンパク質の補因子を光増感剤に置換することで人工光捕集系への応用展開を行い、複数の光化学的測定により、構築した集合体が光捕集能を有することを明らかにした。

以上、本博士論文では、対称性の高い環状六量体ヘムタンパク質に対して様々な分子を表面修飾することにより、異なる形状のタンパク質人工集合体の形成を誘起し、それらの構造的・機能的評価を行った。本研究で得られた知見は、新規ソフトマテリアルとしてのタンパク質集合体の構築およびその応用研究への発展に大きく寄与するものである。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (平 山 翔 太)	
	(職) 氏 名
論文審査担当者	主 査 教授 林 高史
	副 査 教授 桑畑 進
	副 査 教授 櫻井 英博
	副 査 教授 南方 聖司
	副 査 教授 今中 信人
	副 査 教授 宇山 浩
	副 査 教授 町田 憲一
	副 査 教授 能木 雅也 (産業科学研究所)
	副 査 教授 古澤 孝弘 (産業科学研究所)

論文審査の結果の要旨

本博士論文は、申請者が大阪大学大学院工学研究科応用化学専攻博士前期課程および後期課程在学中に実施した、タンパク質人工集合体構築およびその応用に関する研究成果について論じたものである。生体内に存在する多様なタンパク質の集合体は多岐にわたる生体内機能の大部分を担っており、構造と機能について研究が盛んに行われている。このような天然のタンパク質集合体を模倣したタンパク質人工集合体は、新規ソフトマテリアルとして、近年多くの報告がなされている。本論文で著者は対称性の高い環状六量体構造を有するヘムタンパク質である **Hexameric Tyrosine-coordinated Heme Protein (HTHP)** をビルディングブロックとし、その表面への様々な分子の化学修飾により、HTHPの対称性を活用した多様な構造の新規タンパク質人工集合体を構築し、その構造的、機能的評価を報告している。

第一章では、HTHPへのピレン分子の修飾による、超分子相互作用の多点的利用に起因するタンパク質の超分子二量化について述べている。分光学的手法により、集合化が設計通りのピレン間相互作用に起因することを示しており、加えて、この集合体がヘム分子の有無による、特徴的な化学種応答的集合解離挙動を示すことを論じている。

第二章では、ホストゲスト相互作用によるタンパク質の二次元集合体構築について述べている。ゲスト分子である **FGG** トリペプチドを **HTHP** に修飾し、これを二分子選択的に包接するホスト分子であるクルビット[8]ウリルを添加することで、ホストゲスト錯体の形成に伴うタンパク質シート状集合体構築を実施しており、また形成したシート状集合体について、その形成過程を高速原子間力顕微鏡(**HS-AFM**)により評価している。

第三章では、HTHPへの熱応答性高分子の修飾による、熱応答的なミセル様タンパク質集合体の構築について述べている。まず得られたミセル様集合体の構造評価を行っている。さらに、その構造的特徴に着目し、集合体の応用研究を実施し、集合体中のタンパク質の補因子を光増感剤に置換することで人工光捕集系への展開を行い、複数の光化学的測定により、構築した集合体が光捕集能を有することを示している。

以上のように、本論文は、対称性の高い環状六量体ヘムタンパク質に対して様々な分子を修飾することで、異なる形状のタンパク質人工集合体を形成しており、それらの構造的・機能的評価について論じている。本研究で得られた知見は、新規ソフトマテリアルとしてのタンパク質集合体の構築およびその応用研究への発展に大きく寄与するものである。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。