

氏名（本籍）	西村 龍
学位の種類	博士（理学）
学位記番号	博甲第 7230 号
学位授与年月日	平成 27 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	数理解物質科学研究科
学位論文題目	

Elucidation of the molecular mechanism responsible for control of functional properties of myoglobin through the heme electronic structure and heme environment

(ヘム電子構造とヘム近傍の環境によるミオグロビンの機能調節機構の解明)

主	査	筑波大学教授	Ph. D.	山本泰彦
副	査	筑波大学教授	理学博士	大塩寛紀
副	査	筑波大学教授	理学博士	守橋健二
副	査	筑波大学教授	工学博士	小島隆彦

論 文 の 要 旨

本論文では、酸素(O₂)貯蔵ヘムタンパク質ミオグロビン(Mb)の機能調節において、Mb に補欠分子族として含まれるヘムの電子構造と近傍の構造化学的環境それぞれが果たす役割を解明する研究を行い、これら 2 つの因子は互いに独立して Mb の機能を調節することを明らかにした。本研究で得られた知見は、Mb を模倣した人工酸素運搬体の創製に役立つことが期待される。近年の医療技術や創薬の目覚ましい進歩とは対照的に、手術等で必要な輸血には、今でも人の血液が使用されており、人の血液を輸血で使用する限り、ウイルス感染症、細菌汚染、合併症等のリスクを完全に無くすことはできない。また、少子高齢化社会を迎えている我が国では、将来的に輸血用血液の需給のバランスが崩れ、輸血用血液の安定な供給が困難になることが危惧されている。人類の健康維持のためには、赤血球に代わる人工酸素運搬体の創製と実用化が急務であることが認識されてから久しいが、現在でも、安全性や有用性の両面で代替赤血球として実用的なものは未だに完成していない。本研究により安全で長期保存が可能な人工酸素運搬体の実用化に向けての道が開かれたと言える。

本研究では、Mb 機能がヘム電子構造を通して調節される機構とヘム近傍の構造化学的環境による調節機構の関係を明らかにするために、Mb のタンパク質部分であるポリペプチド鎖の N 末端から 64 番目の His64 を Leu に置換した H64L 変異体と 29 番目の Le29 を Phe に置換した L29F 変異体に、トリフルオロメチル基をはじめとする種々の官能基をヘム側鎖に導入した一連の化学修飾ヘムを組み込んだ再構成 Mb 変異体試料を調製し、それぞれの O₂および一酸化炭素(CO)との結合反応の動力学的パラメータ、O₂結合状態におけるヘム鉄の Fe²⁺から Fe³⁺への自発的酸化である自動酸化反応速度定数を計測すると共に、ヘム電子構造とヘムとタンパク質の相互作用を種々の分光法により解析した。

H64L変異体の研究からは、ヘム電子構造を通したMb機能調節機構は、His64の置換の影響をほとんど受けないことが実証された。His64はヘム鉄に結合したO₂と水素結合を形成し、O₂の配位状態の安定化に寄与していることが知られていることから、ヘム鉄に結合したO₂とHis64の水素結合の有無はヘム電子構造を通したMb機能調節機構に影響を及ぼさないことが明らかになった。したがって、ヘム電子構造を通した調節機構とヘム近傍の構造化学的環境による調節機構は互いに独立してMbの機能を調節することが明らかになった。また、L29F変異体の研究では、ヘム鉄に結合したO₂がHis64との水素結合に加えPhe29と相互作用するため、O₂親和性が高いことが知られていたが、ヘム鉄の電子密度がより高いヘムを組込むことにより、COよりもO₂に対して高い親和性を示すタンパク質の調製に初めて成功すると共に、逆に、ヘム鉄の電子密度が低いヘムをL29F変異体に組込むことにより、COとO₂の親和性を逆転させることにも成功した。そして、H64L変異体およびL29F変異体における機能調節の比較から、O₂とCOの親和性の比を最大10万倍の範囲で制御できることが示された。さらに、自動酸化反応は、ヘム鉄の電子密度の減少と共に遅くなることも実証することに成功した。このように、本研究により、高いO₂運搬効率と遅い自動酸化反応を兼ね備えた人工酸素運搬体の創製に有用な分子設計が提案された。

審 査 の 要 旨

[批評]

本論文では、酸素貯蔵ヘムタンパク質ミオグロビンの酸素親和性、酸素と一酸化炭素の識別能、ヘム鉄のFe²⁺からFe³⁺への自動酸化反応速度を自在に調節する手法の開発が行われ、ヘムの電子構造と近傍の構造化学的環境を最適化することにより、酸素と一酸化炭素の親和性の比を最大10万倍の範囲で制御できることを実証することに成功した。また、高い酸素運搬効率と遅い自動酸化反応を兼ね備えた人工酸素運搬体として利用できるミオグロビン模倣分子の創製に役立つ分子設計指針の提唱にも成功した。これらの研究成果は、生物無機化学、生物化学、生体分子科学の研究分野で高く評価されると共に、人類の健康維持のために重要な人工酸素運搬体の創製の実用化に貢献することが期待されることから、応用面でも高く評価されている。

[最終試験結果]

平成27年2月12日、数理物質科学研究科学学位論文審査委員会において審査委員の全員出席のもと、著者に論文について説明を求め、関連事項につき質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって、合格と判定された。

[結論]

上記の論文審査ならびに最終試験の結果に基づき、著者は博士(理学)の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。