

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	シトクロムc3のヘムの酸化還元に伴う 電子移動制御機構の解明
Title(English)	
著者(和文)	小林永佑
Author(English)	Eisuke Kobayashi
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第9481号, 授与年月日:2014年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:朝倉 則行,丹治 保典,中村 聡,三原 久和,蒲池 利章
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第9481号, Conferred date:2014/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

論文審査の要旨及び審査員

報告番号	甲第 号			学位申請者氏名		小林 永佑	
論文審査 審 査 員		氏 名	職 名		氏 名	職 名	
	主査	朝倉 則行	講 師	審査員	蒲池 利章	准教授	
	審査員	丹治 保典	教 授				
		中村 聡	教 授				
		三原 久和	教 授				

論文審査の要旨（2000 字程度）

本論文は「シトクロム c_3 のヘムの酸化還元に伴う電子移動制御機構の解明」と題し、5 章より構成されている。

第 1 章「緒論」では、酸化還元タンパク質の分子間電子移動と本研究で用いた酸化還元タンパク質シトクロム c_3 について概観し、本研究の目的と意義について述べている。シトクロム c_3 は電子を一時的に貯蔵し、その間に相手を認識する電子プール機構を有するタンパク質であり、この電子プール機構に関わるこれまでの研究について述べている。さらに、本研究で利用した高感度 EQCM 法および新たに開発した電気化学プローブを利用したタンパク質の分子間電子移動測定法について述べている。

第 2 章「シトクロム c_3 の電子プール機構に関わるヘムの特定」では、シトクロム c_3 の電子プール機構に関わるヘムの特定を目的として、ヘムの軸配位子を 1 ヶ所置換したシトクロム c_3 変異体と酸化還元分子ビオローゲンとの電子移動複合体形成反応を調べた結果について述べている。軸配位子を置換したヘムはシトクロム c_3 の分子間電子移動の経路から外れるので、電子プール機構が機能しないシトクロム c_3 変異体を見出すことにより、電子プール機構に関わるヘムを特定している。3 種類のビオローゲン固定化電極の調製方法および調製した電極のキャラクタリゼーションについて述べ、次に、シトクロム c_3 とビオローゲンの電子移動複合体形成を高感度 EQCM 法によりモニターした結果を述べている。高感度 EQCM 測定の結果、いずれのビオローゲンにおいても、ヘム II がシトクロム c_3 の分子間電子移動経路から外れた場合に、電子プール機構が働かないことが示されている。この結果から、ヘム II の酸化還元が電子プール機構を引き起こしていることを明らかにしている。

第 3 章「ヘム II の酸化還元に伴うシトクロム c_3 の電子移動制御機構」では、ヘム II の酸化還元とシトクロム c_3 の構造変化、および電子プール機構の関係を明らかにすることを目的として、ヘム II の酸化還元を直接コントロールした条件下において、シトクロム c_3 と酵素ヒドロゲナーゼとの電子移動を調べた結果を述べている。ヘム II の酸化還元を直接コントロールするために、ヘム II を電極に固定化したヘム II 配向シトクロム c_3 固定化電極を用いており、比較として、ヘム III 配向シトクロム c_3 固定化電極を用いている。はじめに、調製した 2 種類のシトクロム c_3 固定化電極の調製方法とキャラクタリゼーションを述べ、次に、調製した電極を介した酵素ヒドロゲナーゼの水素発生反応および水素吸収反応の電気化学測定を行なった結果を述べている。電気化学測定の結果から、ヘム II の酸化還元が酸化型シトクロム c_3 と還元型シトクロム c_3 の変換を行なっていることを明らかにしている。これにより、ヘム II の酸化還元が引き金となるシトクロム c_3 の構造変化のアウトプットとして電子プール機構が見られることを明らかにしている。

第 4 章「電気化学プローブを利用したタンパク質の分子間電子移動測定法の開発」では、シトクロム c_3 とヒドロゲナーゼの分子間電子移動を調べる手法の開発を目的として、微小プローブ金電極と基盤金電極の 2 種類の電極に固定化した分子同士を接触させ、電子移動測定を行なった結果を述べている。分子同士を接触させて、電子移動を測定するために、走査型電気化学顕微鏡を改良した測定法の開発を行なっている。測定上の問題はトンネル電流および 2 電極間の金原子同士の結合により大きな電流値が流れ、固定化分子同士の電子移動による電流値を観測できないことであり、この問題を電極表面に 2 nm 以上の分子層を構築することにより解決できることを明らかにしている。さらに、ヒドロゲナーゼおよびビオローゲンを基盤電極、プローブ電極にそれぞれ 2 nm 以上離して固定化し、基盤電極上のヒドロゲナーゼにプローブ上のビオローゲンを接触させ、電子移動を測定した結果を示している。これにより、開発した測定法を用いてシトクロム c_3 とヒドロゲナーゼの分子間電子移動を調べることが可能であることを明らかにしている。

第 5 章「総括」では、本研究の結果を総括している。

これを要するに、本論文では酸化還元タンパク質シトクロム c_3 の一定方向に電子を伝達するための電子移動制御機構に関する重要な知見を獲得している。これにより、酸化還元タンパク質を利用した高効率な物質生産への応用の土台作りに寄与し、工学上ならびに工業上貢献するところが大きい。よって本論文は、博士（工学）の学位論文として十分な価値があるものと認められる。