

論文 / 著書情報  
Article / Book Information

題目(和文)	超分子蛋白質による細胞内一酸化炭素放出材料の設計
Title(English)	Design of Intracellular CO Release Materials Constructed by Supramolecular Proteins
著者(和文)	藤田健太
Author(English)	Kenta Fujita
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9991号, 授与年月日:2015年9月25日, 学位の種別:課程博士, 審査員:上野 隆史,田口 英樹,櫻井 実,近藤 科江,大谷 弘之
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第9991号, Conferred date:2015/9/25, 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

(博士課程)

## 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	藤田 健太	
		氏名	職名	氏名	職名
論文審査 審査員	主査	上野 隆史	教授	大谷 弘之	准教授
	審査員	田口 英樹	教授		
		櫻井 実	教授		
		近藤 科江	教授		

### 論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「Design of Intracellular CO Release Materials Constructed by Supramolecular Proteins (超分子蛋白質による細胞内一酸化炭素放出材料の設計)」と題し、全6章から構成されている。

第1章「General Introduction」では、細胞内におけるCOの機能、産生機構について言及し、人工的に細胞内シグナル伝達反応を制御するため、細胞外CO輸送の必要性について述べている。さらに、COの輸送手法として従来利用されてきた、金属カルボニル錯体やそのキャリア分子の特性を明示し、問題点を挙げている。その解決のために、超分子蛋白質のキャリア分子としての利用を提案し、かご型蛋白質フェリチン(Fr)と針状蛋白質(PN)を用いた分子設計を示している。

第2章「Intracellular CO Release from Composite of Ferritin and Ruthenium Carbonyl Complexes」では、ルテニウムカルボニル錯体とFrの複合体を合成し、その構造の同定、CO放出特性の評価、哺乳細胞内での機能を評価している。pH 8の緩衝溶液中において複合体を合成し、単結晶X線結晶構造解析によってFr内部のルテニウムカルボニル錯体の結合様式を明らかにしている。また、Frが、従来のルテニウムカルボニル錯体と比較して、細胞内へのルテニウムの輸送効率を4倍向上させ、CO放出速度を18倍遅くする効果を有することが示されている。さらに、合成した複合体から放出されたCOがヒト胎児腎細胞(HEK293細胞)内において、サイトカインtumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )の存在下で、核転写因子nuclear factor kappa B (NF- $\kappa$ B)の活性化を誘起していることを明らかにしている。その活性化効果が、ルテニウムカルボニル錯体単体では見られないことから、Frが細胞内へ輸送したCOの機能を見出すために有用なキャリア分子であることを示唆している。

第3章「A Photoactive CO Releasing Protein Cage for Dose-Regulated Delivery in Living Cells」では、2章で明らかにしたCOによるNF- $\kappa$ B活性化のメカニズムをより詳細に議論するために、細胞内におけるCO放出のタイミングと量の制御を試みている。具体的には、光刺激によるCO放出が可能なマンガンカルボニル錯体をFrに導入し、細胞内へ輸送する手法を開発している。緩衝溶液中ならびに細胞内において、合成した複合体に456 nmの可視光を照射することでCOが放出されていることを確認している。また、2章と同様、細胞内で放出されたCOのNF- $\kappa$ Bへの作用を評価したところ、TNF- $\alpha$ が添加されるタイミングよりも早くCOを放出し、さらに、光の照射時間を長く設定してより多くのCOを放出させることで、効率的にNF- $\kappa$ Bが活性化されることを見出している。

第4章「Construction of Photoactive CO Release Protein Needle」では、細胞膜を直接透過し、細胞内での動態・局在の制御が期待されるキャリア分子であるPNにマンガンカルボニル錯体を修飾する手法を提案している。遺伝子工学的な手法を用いて、PNのC末端部位へヒスチジンタグ配列を挿入することによって、マンガンカルボニル錯体をPNへ固定化することに成功している。合成した複合体は、456 nmの光を照射することによって、半減期24 minでCOを放出する反応性を有していることを確認している。

第5章「Visible Light-induced Intracellular Rapid CO Release from Bipyridyl ligand-modified Protein Needle Carrier」では、第4章で合成した複合体のCO放出速度の向上を目指し、より可視光に対する感度がよいと報告されている合成ビピリジン配位子が結合したマンガンカルボニル錯体を、PNのシステイン変異体への化学修飾により導入している。合成した複合体は、456 nmの光照射によるCO放出速度が4章で作製した複合体と比較しておよそ50倍速くなっていることが分かり、さらに、細胞内においても同様の速度でCOが放出されていることを示唆する結果が得られている。つまり、PNは合成カルボニル錯体の反応性を維持した状態で細胞内へ輸送できるキャリア分子であることが示されている。

第6章「General Conclusion」では、第2章から第5章で得られた研究成果とその意義について述べている。

これを要するに、本研究で構築した超分子蛋白質を基盤とした細胞内CO輸送手法は、従来利用されてきたカルボニル錯体のみでは明らかにすることのできなかったCOの機能を見出すことを可能にしており、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。

注意:「論文審査の要旨及び審査員」は、東工大リサーチポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。