

様式 I

博士學位論文調査報告書

論文題目

Atomic and electronic analysis of interactions between nanoporous Au and proteins

(ナノポーラス金とタンパク質の電子・原子論的相互作用解析)

申請者 宮澤 直己

最終学歴 平成 31 年 3 月

京都大学大学院エネルギー科学研究科エネルギー応用科学専攻博士後期課程
修了

学識確認 平成 年 月 日 (論文博士のみ)

調査委員 京都大学大学院エネルギー科学研究科
(主査) 教授 馬淵 守

調査委員 京都大学大学院エネルギー科学研究科
教授 宅田 裕彦

調査委員 京都大学大学院エネルギー科学研究科
教授 土井 俊哉

(続紙 1)

京都大学	博士 (エネルギー科学)	氏名	宮澤 直己
論文題目	Atomic and electronic analysis of interactions between nanoporous Au and proteins (ナノポーラス金とタンパク質の電子・原子論的相互作用解析)		
(論文内容の要旨)			
<p>本論文は、第一原理計算と分子動力学シミュレーションを組み合わせた計算結果から、ナノポーラス金属とタンパク質の相互作用を電子論的及び原子論的観点から論じた結果をまとめたもので、7章からなっている。</p> <p>第1章は序論で、ナノポーラス金の作製方法およびその特性に関する従来の研究をまとめている。その中で、自己集積化単分子膜(SAM)修飾ナノポーラス金上に固定したラッカーゼは高温(350K)で高い酵素活性を示すこと、またナノポーラス金は活性酸素や金属イオン等の有害物質を放出することなく抗菌性を示すこと等これまでにない特性を示すものの、その発現メカニズムについてはよくわかっていないことを詳述し、本研究の意義と目的について述べている。</p> <p>第2章では、ラッカーゼにSAM修飾ナノポーラス金を結合させた場合と結合させない場合のラッカーゼの構造安定化計算を行うとともに、基質とのドッキングシミュレーションを行い、ラッカーゼの酵素活性に及ぼすナノポーラス金の影響を調べている。SAM修飾ナノポーラス金はラッカーゼの構造変化をもたらし、これが基質との疎水相互作用に影響を与え、酵素活性が向上することを明らかにしている。特に、350Kの高温において酵素活性向上が高まることを明らかにしている。</p> <p>第3章では、ナノポーラス金が細菌の細胞壁に及ぼす影響を、第一原理計算および分子動力学シミュレーションを用いて調べている。まず、ナノポーラス金表面と細胞壁の相互作用により、細胞壁が負に過分極することを第一原理計算により明らかにしている。さらに、分子動力学シミュレーションにより、過分極した細胞壁が膜貫通タンパクであるカリウムイオンチャンネルの選択フィルターの構造を変化させることを示している。</p> <p>第4章では、ナノポーラス金の抗菌活性と仕事関数が正の相関関係にあることを、ポア・リガンドサイズの異なるナノポーラス金や白金成分を含んだナノポーラス合金等を用いた実験により明らかにするとともに、第一原理計算により正の相関関係の原因を電子論的に調べている。ナノポーラス金の表面は固体電気二重層により正に分極し、これが細胞壁の負の過分極をもたらす。一方、仕事関数は固体電気二重層に起因している。以上のことを第一原理計算により明らかにし、仕事関数の増大にともないナノポーラス金の抗菌活性が向上することを示している。</p>			

第 5 章では、負に過分極した細胞壁とカリウムイオンチャネルの相互作用を調べている。**Bias-Exchange Metadynamics** を用いチャネル中を通過するイオンの通過速度を計算し、負に過分極した細胞壁の影響を受けた場合カリウムイオンの通過速度は増加する一方で、ナトリウムイオン、セシウムイオンの通過速度はあまり変化しないこと、また、第一原理計算により過分極細胞壁との相互作用によって選択フィルターの構造が変化し、これが原因でイオン間距離が変化することでカリウムイオンの通過速度が増加することを明らかにしている。このことは、ナノポーラス金との相互作用により、細胞内外のカリウムイオン濃度が変化し細菌死をもたらされることを示唆している。

第 6 章では、負に過分極した細胞壁と ATP 合成酵素の相互作用を調べている。ATP 合成酵素ではリング状のサブユニット c の中心部分に存在する Asp61 のプロトン化/脱プロトン化というプロセスを経てプロトン輸送がなされることから、Asp61 のプロトン化/脱プロトン化に及ぼす負に過分極した細胞壁の影響を第一原理計算で解析している。その結果、過分極した細胞壁との相互作用により Asp61 のプロトン解離エネルギーが低くなること、プロトン解離エネルギーの変化は過分極細胞壁との相互作用により Asp61 の分極が強まることにより生じることを明らかにしている。以上の結果は、第 5 章で示したカリウムイオンチャネルの機能障害以外にも、ナノポーラス金の相互作用が ATP の生成を抑制し細菌死をもたらすことを示唆している。

第 7 章は総括で、ナノポーラス金によるラッカーゼの酵素活性向上のメカニズム、およびナノポーラス金の抗菌性メカニズムについて得られた研究成果を要約している。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

本論文は、第一原理計算と分子動力学シミュレーションを組み合わせることで、金属とタンパク質の電子的相互作用を正確に解析するとともに、タンパク質の構造変化を原子レベルで解析することにより、ナノポーラス金によるラッカーゼの酵素活性向上メカニズムおよびナノポーラス金の抗菌性メカニズムを解明した結果をまとめたものであり、得られた主な成果は次のとおりである。

1. ラッカーゼを自己集積化単分子膜修飾ナノポーラス金上に固定すると、ラッカーゼの内部エネルギーが低下し構造が変化した。ラッカーゼと基質の結合に及ぼす構造変化の影響を調べた結果、ラッカーゼの構造変化が基質との疎水相互作用に大きな影響を及ぼすことがわかった。以上のことから、ナノポーラス金によりラッカーゼの酵素活性が向上したのは、ナノポーラス金によるラッカーゼの構造変化に起因することを明らかにした。
2. ナノポーラス金が細菌の細胞壁に及ぼす影響を第一原理計算を用いて調べた結果、ナノポーラス金の表面は固体電気二重層により正に分極し、これが細胞壁の負の過分極をもたらすことを明らかにした。また、ナノポーラス金の仕事関数の増大にともない、抗菌活性が向上することを電子論的に解明した。
3. 負に過分極した細胞壁とカリウムイオンチャネルの相互作用を **Bias-Exchange Metadynamics** により調べた結果、過分極細胞壁との相互作用によって選択フィルターの構造が変化し、イオン間距離が変化することでカリウムイオンの通過速度が増加することを明らかにした。
4. ATP 合成酵素に及ぼすナノポーラス金の影響を調べることを目的に、Asp61 のプロトン化/脱プロトン化に及ぼす負に過分極した細胞壁の影響を解析した結果、過分極した細胞壁との相互作用により Asp61 の分極が強まり、プロトン解離エネルギーが低くなることを明らかにした。

以上、本論文は、第一原理計算と分子動力学シミュレーションにより、ナノポーラス金とタンパク質の相互作用を電子・原子論的に解析し、ナノポーラス金によるラッカーゼの酵素活性向上機構およびナノポーラス金の抗菌性機構を明らかにした研究であり、学術上、實際上、資するところが少なくない。

よって、本論文は博士(エネルギー科学)の学位論文として価値あるものと認める。また、平成31年1月24日に実施した論文内容とそれに関連した試問の結果合格と認めた。

なお、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文の全文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降