氏　名	北辻　千展

（論文内容の要旨）

本論文は、活性酸素による蛋白質機能制御の分子機構を、構造的・機能的見地から明らかにすることを目的に行った研究成果をまとめたものであり、4 部 5 章から構成されている。

第 1 部は、申請論文の研究背景をまとめたものである。活性酸素は、ミトコンドリアの呼吸鎖で分子状酸素が消費される際に副産物として生じる反応性の高い化学種である。活性酸素は、ＤＮＡの塩基や蛋白質のアミノ酸残基、酵素の金属イオンなどを酸化することで、ＤＮＡの変異や酵素の失活を誘導する有害な分子として考えられてきたが、一方で、近年、活性酸素の高い反応性を利用して、アミノ酸や金属イオンを酸化することで、蛋白質において構造変化を誘起してその機能制御を行うことが示唆されるようになってきた。しかし、このような活性酸素による蛋白質の機能調節機構は、多くの場合、転写因子のような一時的に発現する蛋白質や構造的に不安定な蛋白質でみられることから、その詳細な分子機構の解明は十分検討されてこなかった。第 1 部においては以上のように、本論文の目的として、活性酸素による蛋白質の機能調節機構を構造的および機能的見地から明らかにすることが記されている。

第2部では、活性酸素による金属イオンの酸化により機能制御を行う蛋白質の分子制御機構についての知見を得るために、補欠分子族ヘムを有する活性酸素センサー蛋白質ニューログロビン(Ngb)について構造的検討を行ったことが記されている。Ngbは、分子状酸素を結合した状態のヘム(酸素結合体)が活性酸素により酸化された(酸化体)場合、構造変化を示すことで、シグナル伝達分子G蛋白質のαサブユニット(Gα)と相互作用し、そのシグナル経路を制御する。このNgbの機能制御には、ヘムが酸化されることによりGαとの相互作用部位が形成されることが重要であることから、NgbのGαに対する相互作用部位を解析した。その結果、CD-D領域(C、Dヘリックス間のループ領域およびDヘリックス)がGαとの相互作用部位であると結論付けられた。このCD-D領域の構造を、既報の構造を基に酸素結合体と酸化体で比較すると、

氏　名	北辻　千展

CD-D領域のループ構造は酸素結合体で外側に2Å程度大きく突き出すことが示唆された。つまり、酸素結合体の突出したループ構造がGαとの相互作用部位において立体障害を生じ、Gαとの結合を阻害するものの、ヘム鉄の酸化によりループの突出が解消されると、NgbはGαと結合可能になるというモデルが考えられた。つまり、活性酸素によるヘム鉄の酸化によるCD-D領域のループ構造変化がGαに対する結合の調節、さらにはそのシグナル経路を制御すると考えられた。

活性酸素による蛋白質の機能制御は、金属イオンの酸化のほか、アミノ酸の酸化によっても行われる。第3部では、制御機構発現に活性酸素と、それによる酸化的修飾が重要な役割を果たすと示唆されながらも、その活性酸素種の同定や酸化修飾過程の詳細が明らかではなかったヘム依存性転写因子 Iron response regulator (Irr)について、構造化学的解析と酸化修飾の分子機構の検討を行っている。Irr は、細胞内の鉄濃度の上昇をヘムの結合を介して感知し、ヘム合成経路を制御する転写因子である。ヘムと結合した Irr は、分子状酸素と結合し、その活性化により酸化的修飾が進行し、最終的に分解されることが知られているが、Irr における活性酸素の生成機構や酸化修飾機構は明らかではなかった。そこで、活性酸素の同定を行った結果、Irr は過酸化水素を産生することが明らかになった。さらに、Irr は、非ヘム鉄を含んでいることが明らかになった。このことは、ヘムによって産生された過酸化水素が、非ヘム鉄によってさらに活性化されて、アミノ酸を酸化することができる高い反応活性を有する活性酸素種を生成することを示唆している。過酸化水素と非ヘム鉄との反応で非ヘム鉄の結合残基であるヒスチジンの酸化が明らかになった。非ヘム鉄を保持しているヒスチジンの酸化によって蛋白質構造の不安定化が引き起こされ、最終的には蛋白質分解につながる可能性が考えられた。

第4部では、前編を通じての総括と、明らかとなった活性酸素による蛋白質の機能調節機構の意義について検討している。

氏　名	北辻　千展

（論文審査の結果の要旨）

本論文は、活性酸素による蛋白質の機能制御の分子機構について、構造的・機能的見地から明らかにすることを目的に行った研究成果をまとめたものである。活性酸素により引き起こされる生体内金属イオンや蛋白質のアミノ酸の酸化を利用して機能制御を行う蛋白質として、それぞれニューログロビン (Ngb)と Iron response regulator (Irr)に注目して、それらの制御機構を検討している。得られた主な成果は以下の通りである。

１．　Ngb におけるシグナル伝達蛋白質 Gαとの相互作用部位の特定を行った。この相互作用部位にはヘムの酸化によって構造変化するループがある事から、ヘムの酸化によりループに構造変化を誘起され、その結果、Gαに対する結合が調節され、細胞内シグナル経路が制御されるというモデルが考えられた。

２．　分光学的手法を用いて Irr におけるヘム結合部位の特定を行い、ヘムの酸化還元状態でその結合部位が変化することを示した。これは活性酸素種を産生するヘムの構造的知見を与えるものである。

３．　Irr が産生する活性酸素種の同定やその酸化修飾残基の特定を行い、酸素から過酸化水素を経由してヒドロキシルラジカルが産生される特異な二段階酸素活性化反応を明らかにした。また、産生されたヒドロキシラジカルが構造安定化因子である非ヘム鉄の結合残基を酸化することで Irr の活性を制御する可能性を示すことが出来た。

以上、活性酸素を利用した蛋白質機能の制御機構について、詳細な構造的、機能的知見を与えることに成功した本論文の内容と成果は学術上のみならず、種々の酸化ストレス軽減を目指したの薬剤、治療法等にもつながる可能性があることから、工学的にも意義を認めることができ、本論文は博士（工学）の学位論文として価値あるものと認める。平成 21 年 2 月 24 日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。