



Title	Regulation of Iron Metabolism in Pathogenic <i>Vibrio cholerae</i> by Heme Utilization Proteins [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	関根, 由可里
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(理学)
Dissertation Number	甲第12320号
Issue Date	2016-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/61655
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Yukari_Sekine_review.pdf, 審査の要旨



学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士（理学） 氏名 関根 由可里

審査担当者	主査	教授	坂口 和靖
	副査	教授	村越 敬
	副査	教授	藤田 恭之
	副査	教授	大利 徹
	副査	教授	武田 定
	副査	教授	石森 浩一郎

学 位 論 文 題 名

Regulation of Iron Metabolism in Pathogenic *Vibrio cholerae* by Heme Utilization Proteins
(ヘム獲得系蛋白質によるコレラ菌鉄代謝の制御)

本論文では、病原菌としてその革新的な治療法が必要とされているコレラ菌において、その菌増殖に必要な鉄獲得系を分子論的に明らかにすることにより、新たな創薬設計の指針を得ることを目指している。コレラ菌における鉄獲得系については、宿主の赤血球中のヘモグロビンに含まれるヘムがその鉄源として同定されているものの、細胞内に取り込まれたヘムからどのような経路で鉄が取り出されるのかについては、明らかではなかった。

本論文では、類似病原菌の相同蛋白質を基にした遺伝子解析により、コレラ菌におけるヘムから鉄を取り出すヘム分解酵素として HutZ をその候補として選択し、HutZ の大腸菌を用いた発現、精製系を確立している。本論文で確立された発現、精製系によって得られた精製タンパク質である HutZ は、pH 6 の場合にはヘム分解活性を有するものの、pH が 8 に上昇するとその活性を失うことが明らかとなった。このようなヘム分解活性の変化を引き起こす HutZ の構造化学的要因を明らかにするため、紫外可視吸収スペクトル、共鳴ラマンスペクトル、X 線結晶構造解析などの多面的な構造化学的手法とヘム分解活性測定、反応生成物の分析といった酵素化学的手法により、その詳細な構造、機能解析を行った結果、ヘムに配位した水分子に対する周辺アミノ酸残基（Arg92）との水素結合の切断により、ヘム鉄の酸化還元電位が上昇することが見出された。このヘム鉄の酸化還元電位の上昇は、ヘムに配位したアミノ酸であるヒスチジン残基の塩基性の減少に対応しており、このヘム鉄配位子の塩基性の減少はヘムに結合した酸素分子の O-O 結合解裂を抑制することで、ヘム分解活性を阻害することを示している。以上のようなヘム近傍のわずかな構造変化による活性制御機構は、他生物由来のヘム分解酵素では報告されておらず、学術的に興味深いだけでなく、創薬のターゲットとしても重要な意義を有していると考えられる。さらに、本論文ではこのヘム分解酵素である HutZ にヘムを受け渡すタンパク質として、HutZ の場合と同様に類似病原菌の相同蛋白質を基にした遺伝子解析から HutX をその候補とし、この HutX の大腸菌による発現、精製系を確立することに成功している。精製した HutX を用いて、表面プラズモン解析や紫外可視吸収スペクトルから HutZ との相互作用を解析した結果、ヘム親和性の高い HutX が HutZ と相互作用することにより、相対的にその親和性が低下し、HutZ にヘムが受け渡される機構が示され、病原菌内でのヘム輸送の一端が明らかになった。このようなヘム輸送の阻害も病原菌の増殖抑制に効果があると期待され、増殖抑制の薬剤等の開発の指針ともなりうる。

以上のような内容の一部は既に、査読付欧文誌である Chemical Communications 誌と Biochemistry 誌に掲載されており、本論文において得られた結果は、病原菌の鉄獲得機構の分子機構解明において学術的にも意義があるばかりではなく、その成果は病原菌の新たな創薬設計の指針にも資すると考えられることから、博士（理学）の授与に値すると判断する。