HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Study on the Sensing Mechanism of Cellular Iron for Iron Homeostasis Mediated by Heme in Iron Regulatory Protein 1 [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	小倉, 麻梨子
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(理学)
Dissertation Number	甲第13274号
Issue Date	2018-06-29
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/71331
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Mariko_Ogura_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

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　小倉　麻梨子

審査担当者

主査	教授	村上 洋太
副査	教授	石森 浩一郎
副査	教授	佐田 和己
副査	教授	大利 徹
副査	教授	藤田 恭之
副査	准教授	内田 毅

学 位 論 文 題 名

Study on the Sensing Mechanism of Cellular Iron for Iron Homeostasis Mediated by Heme in Iron Regulatory Protein 1
（ヘムを介した鉄制御蛋白質 IRP1 による細胞内鉄感知機構に関する研究）

本論文は、鉄イオンの細胞内恒常性を維持している鉄制御蛋白質（Iron Regulatory Protein: IRP）の機能制御機構に関して、多様な分光学手手法を駆使することでその分子論的解明を目指したもので、5 章から成っている。

第一章では、細胞内鉄恒常性の生物学的重要性とその維持機構解明のこれまでの研究に関する概略を述べるとともに、細胞内鉄恒常性を維持する中核的な翻訳制御蛋白質である IRP には 2 つの相同体が存在することと、それらの構造的特徴を示している。さらに、細胞内鉄量が増加した場合にはいずれも鉄ポルフィリン錯体であるヘムが結合することで、標的となる mRNA（鉄応答要素：Iron Responsive Element (IRE)）への結合が阻害されることが想定されているものの、IRP1 については、そのヘム結合に関して、分子論的、構造化学的に検証されていないことを述べている。

第二章では、IRP1 へのヘムの結合を吸収スペクトル、及び共鳴ラマンスペクトルで検討し、IRP1 は 3 つのヘム結合部位が存在しうること、いずれのヘム結合部位もシステイン残基がヘムの軸配位子として配位し、その周辺の配列は、これまでヘムを情報伝達分子として結合する制御蛋白質の場合にヘム結合部位を形成すると報告されているヘム結合モチーフ（Heme Regulatory Motif(HRM)）の配列を有すること、ヘム鉄と配位しているシステイン残基の間の結合は、これまで報告されている P450 などのヘムを活性中心とし、システインが配位しているヘム蛋白質に比べ弱いことが明らかとなり、これらはいずれもヘムを細胞内の情報伝達分子として可逆的に結合する制御蛋白質の特徴であることを示している。さらに、ヘムを結合することができることが報告されている相同体の IRP2 においては、ヘムの結合により蛋白質部分が酸化修飾され、それによって標的である IRE との結合能が消失すると報告されているが、IRP1 ではそのような酸化修飾は誘起されない。このことについて、その酸化修飾過程として重要なヘム鉄の還元過程に注目して検討したところ、IRP2 で反応中間体として観測されるヒスチジンを軸配位子とする 5 配位のヘムが、IRP1 では観測されないことを見出し、IRP1 は同じヘムを結合する IRP2 とは異なった制御機構を示すことを明らかにした。

第三章では、第二章で示唆された細胞内鉄量のシグナル伝達分子としてのヘムの機能を確認するため、IRP1 のヘムに対する親和性について、表面プラズモン測定装置を用いて検討した。その結果、ヘムを活性中心として利用する多くのヘム蛋白質のヘム親和性に比べ、IRP1 のヘム親和性は非常に低く、ヘムをシグナル伝達分子として利用している制御蛋白質のヘム親和性に近かった。さらに、蛍光ラベル IRE を結合した IRP1 にヘムを添加し、その蛍光異方性の変化を追跡することで、ヘムによる IRP1 からの IRE の解離も確認された。これらの結果は、IRP1 に対してヘムは可逆的に結合し、シグナル伝達分子として機能し得ることを示している。

第四章では第二、三章で明らかになった IRP1 に対するヘムのシグナル伝達機構を構造化学的に検証するため、ヘムが結合した IRP1 の結晶構造解析を行っている。結晶条件検討の結果、単結晶を得ることができ、ヘムが結合した IRP1 の構造を分解能 2.3Å で決定することができた。得られた構造から、ヘムは IRP1 のドメイン 3 と 4 の間に位置し、IRP1 に対して IRE 結合部位を閉じるような構造変化を与えることを明らかにした。

第五章では本学位論文において得られた結果や今後の展望をまとめている。本学位論文では、これまで分子論的に十分検討されていなかった IRP1 におけるヘムの結合を分光学的に確認し、そのヘム結合部位や配位環境がこれまで報告されているヘムを細胞内シグナル伝達分子として機能する制御蛋白質と類似していること、さらにヘムは IRP1 に可逆的に結合し，IRP2 とは異なった機構で IRE 結合を阻害することを明らかにした。以上のような内容の一部は，査読付欧文学会誌である Journal of Inorganic Biochemistry 誌に掲載され、学術的意義が国際的にも評価されており、本論文によって得られた成果は、細胞内鉄恒常性維持の分子機構解明に貢献したのみならず、ヘムによる新たな細胞内シグナル伝達システムの解明にも重要な指針を与え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。