



Title	Reaction Mechanism of HnfZ-type Heme Degradation Enzymes with Unique Structure [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	道順, 暢彦
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(理学)
Dissertation Number	甲第13677号
Issue Date	2019-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/74174
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Nobuhiko_Dojun_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 道順 暢彦

審査担当者	主査	教授	坂口 和靖
	副査	教授	石森 浩一郎
	副査	教授	村越 敬
	副査	教授	大利 徹
	副査	教授	佐田 和己
	副査	准教授	内田 毅

学 位 論 文 題 名

Reaction Mechanism of HutZ-type Heme Degradation Enzymes with Unique Structure
(特異な構造を有する HutZ 型ヘム分解酵素の反応機構)

本論文は、過去から現在に至るまでその強い感染力で流行し、多くの人々が罹患するコレラ菌の鉄代謝機構について、その分子論的解明を目指したものである。コレラ菌のような病原菌も、高等生物同様、その生命維持において鉄を必須元素とするが、その生育環境から、病原体の鉄源は宿主が有する鉄錯体であるヘムである場合が多い。したがって、コレラ菌をはじめとする病原菌の多くは、宿主のヘムをその菌体内に取り込み、そこで鉄を取り出す独自のシステムを有している。コレラ菌の場合、この宿主からのヘムから鉄を取り出すシステムとして、独自の蛋白質系 Hut 系を有している。第 1 章では、この Hut 系の概略とその中心的な酵素でヘムから鉄を取り出す酵素である HutZ についてのこれまでの研究背景とその課題が示され、本論文で期待される成果は、病原菌の鉄取り込みの分子機構に基づく阻害剤開発を通して、新たな抗菌剤開発の道を開く可能性があることが述べられている。

第 2 章第 1 節では、これまでの研究から HutZ は、高等生物が有しているヘム分解酵素であるヘムオキシゲナーゼ (HO) とは全く異なったアミノ酸配列や立体構造を有するにもかかわらず、その反応機構はほぼ同様な反応中間体を経由して進むと想定されていた。しかし、反応過程における 2 つの重要な中間体が未同定であり、その全容は明らかではなかった。本節では種々の分光学的手法を駆使することで、未同定であった反応中間体が、HO に対応する反応中間体とほぼ同じ構造的特徴を有していることが示され、HutZ の反応機構が最終的に同定された。このような反応機構の詳細な解明は、反応機構に基づく阻害剤開発において重要な意義を有していると考えられる。さらに第 2 章第 2 節では、OH と同じヘム分解機構を示すにもかかわらず、HutZ の立体構造が HO とは大きく異なり、特にヘム近傍には HO では形成されず、ヘム分解反応には不利と想定される水素結合が存在していることに注目し、その機能的意義の検討を行った。この水素結合を形成しないアミノ酸変異体では、予想とは異なり、ヘム分解反応は全く進行せず、これは水素結合の開裂により、ヘムが分解を受ける位置に固定されないことによると結論付けている。つまり、HutZ で観測されるヘム近傍の水素結合は、ヘムを分解のために適切な部位に固定する機能を有していることが示され、HutZ のヘム分解機構を分子論的に理解する上で重要な知見であると考えられる。

さらに第 3 章では、このように蛋白質構造が HO と大きく異なる HutZ がどのようにしてヘム分解活性を得たのか検討するため、地球上に出現したときの代謝経路等を保持し、現存の生物の祖先型の蛋白質を有すると考えられているシアノバクテリアを取り上げ、HutZ との類似蛋白質 Alr5027 に注目した。このシアノバクテリア由来の Alr5027 はそれ自身ではヘムを結合しないことが示されたものの、HutZ におけるヘム近傍残基を Alr5027 の対応する位置に導入することでヘムが結合可能となり、さらにヘム分解活性も観測された。つまり、コレラ菌の HutZ は HO とは全く異なるアミノ酸配列を有し、ヘム分活性を有しない祖先型の蛋白質から分子進化によりヘム分解活性を獲得したと推論できる。以上の結果は、高等生物のヘム分解酵素とアミノ酸配列、立体構造が大きく異なるにもかかわらず、コレラ菌の HutZ がヘム分解活性を獲得した分子進化に関する興味深い知見であり、バクテリア類の種々の機能獲得過程についても重要な示唆を与えるものと考えられる。

一方、申請者はこのような HutZ の研究の過程で、ヘムからの鉄の遊離を観測するために添加した鉄キレート剤が、ヘム分解反応を抑制することを見出し、第 4 章ではその阻害機構について議論している。

HutZ のアミノ酸置換体や種々の鉄キレート剤のヘム分解抑制能の結果から、鉄キレート剤は HutZ においてヘム分解に必要なプロトン供給経路を遮断することで、ヘム分解反応を抑制する機構が提案されている。特に、これまでコレラの治療薬として活用されてきたテトラサイクリンも鉄キレート機能を有することを考慮すると、これまで十分議論されていなかったコレラ治療薬の分子論的作用機序の一端が明らかになったとも考えられ、コレラに対する治療薬としての鉄キレート剤の新たな可能性を示したことは、学術的のみならず、創薬探索という点でも興味深い。

第 5 章では、本論文で得られた結果とその考察を総括した論文全体のまとめとともに、HutZ のヘム分解機構解明の意義と新たな抗菌薬設計への指針について述べられている。

以上の結果と考察は、いまなお社会に大きな影響を与えている病原菌の増殖に必須な鉄獲得機構の分子論的解明という学術的な意義だけではなく、その波及効果として新規創薬までつながる可能性のある業績を含んでおり、北海道大学博士（理学）の学位を授与される資格があるものと認められる。