

## 審査の結果の要旨

氏名 徳納 吉秀

本論文において、学位請求者(徳納吉秀)は鉄還元細菌(シュワネラ菌、ジオバクター菌)の外膜に局在化したフラビン結合型シトクロムタンパク質を題材とし、生体電子移動反応における生体反応場の役割を明らかにすることを目的として研究を行った。本論文は以下の5章から構成されている。

第1章では、研究の背景、目的、及び概要が論じられており、本論文の研究の意義づけが明確にされている。生体内での電子移動反応は、光合成や呼吸鎖電子伝達といった生命維持に必須なエネルギーの獲得を支え、さらに物質生産などの工業技術へと応用される重要な反応である。そのため、生体電子移動反応を媒介するタンパク質の結晶構造や生化学的性質が盛んに研究されてきているが、細胞内は様々な生体分子同士の有機的な相互作用や、エネルギー・電子の流れなどが複合的に作用しうる極めて複雑な反応場であることから、生物そのものを研究対象とし、細胞という反応場における電子移動機構を解明するアプローチが注目されている。鉄還元細菌であるシュワネラ菌はその外膜に電子伝達タンパク質であるシトクロム複合体を分布させ、細胞外の固体に直接電子を伝達させる。そのため、電極を用いて鉄還元細菌そのものを電気化学解析する手法「微生物電気化学」により、生体反応場を維持したままに外膜シトクロムを介した電子移動反応を追跡することが可能となる。シュワネラ菌により自己分泌されたフラビンが外膜シトクロム複合体のサブユニットである **MtrC** タンパク質に結合することで駆動する動的な電子移動加速現象は、微生物細胞という反応場があつて初めて成り立つことから、その分子機構を解明することができれば、電子移動における生体反応場の役割の理解につながる事が期待される。しかし、微生物電気化学により取得できる知見は電気特性に限られていた。そこで学位請求者(徳納吉秀)は微生物電気化学をその他測定技術と組み合わせることで、フラビン結合型 **MtrC** を介した電子移動の分子機構の解明に取り組んでいる。

第2章では、**MtrC** に結合したフラビン分子の置換法を微生物電気化学測定と組み合わせることで、フラビン結合型 **MtrC** を介した電子移動の律速過程の特

定が試みられている。その結果、フラビンのイソアロキサジン環 5 位に位置する窒素原子(N(5))のプロトン化反応がフラビン結合型 MtrC を介した電子移動の律速過程であることが強く示唆された。さらにこの章では重水添加による速度論的同位体効果を検討することで、フラビン N(5)部位へと供与されるプロトンが MtrC 内の水素結合ネットワークにより伝達されていることが示唆された。従来の結晶構造に基づいた解析では電子移動が律速過程となることが前提となっており、律速プロトン移動を媒介する MtrC 内水素結合ネットワークは報告されていないことから、本結果は MtrC がシュワネラ菌の生体反応場に置かれることで初めて水素結合ネットワークを形成し、フラビンによる加速を実現していることを示唆している。以上の知見は、細胞という生体反応場が電子移動速度、そしてタンパク質構造を変化させうることを示している。

第 3 章では、円偏光二色性測定を微生物電気化学手法と組み合わせることで、生体反応場における MtrC 構造の追跡が試みられている。その結果、シュワネラ菌の外膜に局在化する MtrC は、単離精製された MtrC と異なるヘム配向を有することが示唆された。さらに、電子が流れる非平衡開放系に置かれることにより MtrC 内の特定のヘムの酸化還元状態が変化することが示唆された。以上のヘムの配向変化、酸化還元状態変化に起因する MtrC 構造の可能性について詳細に議論され、第 2 章で示唆された水素結合ネットワーク形成に十分な構造変化が生体反応場により実現可能であることが示された。本知見は、生体反応場が構造変化を通じて生体電子移動機構を変化させうることを示している。

第 4 章では、フラビン結合型外膜シトクロムを介した微生物への電子注入機構について論じられている。シュワネラ菌の場合には菌体外への電子排出時、菌体への電子注入時のいずれの場合にもフラビンが外膜シトクロムに結合する一方で、ジオバクター菌では、電子注入時にのみフラビンが解離し、電子注入が抑制される機構が示唆された。さらにこの章では電子注入を促進することでバイオフィームと呼ばれる微生物集団の厚みが減少することが示された。このことから、生体環境における電子移動機構の理解を深めることで、微生物単体の活性のみならず、微生物集団としての振る舞いまでも制御できる可能性が示された。

第 5 章では、本研究の総括、及び、今後の展望が論じられている。

本論文における以上の研究成果は、生体環境でのみ駆動するフラビン結合 MtrC の電子移動加速機構の一端を分子レベルで解明することを通じて、電子移動反応に対する生体反応場の役割の理解に貢献する優れたものである。

よって本論文は博士（工学）の学位請求論文として合格と認められる。