

論文内容の要旨

博士論文題目 Studies on the factors that affect oligomerization of *c*-type cytochromes in cells

(*c*型シトクロムの細胞内多量化に影響する要因に関する研究)

氏 名 Yang, Hongxu

(論文内容の要旨)

タンパク質のドメインスワッピングに関する知見は増えているが、細胞内でのドメインスワッピングに影響を与える要因についてはほとんど明らかにされていない。多くの *c* 型シトクロム (cyt) はエタノール処理によりドメインスワッピングし、多量体を形成する。そこで、本論文では、タンパク質膜輸送機構、レアコドン位置、タンパク質表面電荷及びアポタンパク質が *c* 型 cyt のドメインスワッピングに与える影響を明らかにすることを目的としている。

第1章では、*c* 型 cyt の構造と機能、シグナルペプチド、レアコドン、ドメインスワッピングについて説明し、本研究の位置づけを示している。

第2章では、緑膿菌 (HT) cyt c_{552} 及び緑膿菌 (PA) cyt c_{551} において膜輸送機構の異なるタンパク質高発現系をそれぞれ構築し、タンパク質膜輸送機構はドメインスワッピングに直接関与しないことを明らかにした。また、プラスミド中のタンパク質配列の中心近くの位置にレアコドンを挿入すると、多量体形成量が増大することを示した。

第3章では、正に帯電しているウマ cyt *c* 及び HT cyt c_{552} は大腸菌内で多量体を形成するが、負に帯電している PA cyt c_{551} 及び深海由来好圧好冷性細菌 cyt c_8 は多量体を形成しないことを示した。さらに、ウマ cyt *c* 及び HT cyt c_{552} の巻き戻り反応系に表面が負に帯電しているリポソームを添加すると得られるタンパク質多量体量が増大することを明らかにした。以上より、負に帯電している膜上で正に帯電している *c* 型 cyt が凝集し、*c* 型 cyt の分子間相互作用が増えることにより多量体量が増大することを提唱した。

第4章では、ホロ cyt *c* 2 量体にアポ cyt *c* を共存させるとホロ cyt *c* 2 量体の単量体への解離速度が増大するが、ホロ cyt *c* 単量体にアポ cyt *c* を共存させるとホロ-アポ cyt *c* 複合体が得られ、アポタンパク質が cyt *c* の多量体形成に影響を及ぼすことを明らかにした。

第5章では、本論文の総括が示されている。

以上のように、本論文では、レアコドン位置、タンパク質表面電荷及びアポタンパク質が大腸菌内での *c* 型 cyt の多量体形成に影響するが、タンパク質膜輸送機構は大きな影響を及ぼさないことを明らかにし、細胞内で起こるドメインスワッピングに影響を与える因子に対する新しい知見が得られた。

(論文審査結果の要旨)

多くの *c* 型シトクロム (cyt) はエタノール処理によりドメインスワッピングし、多量体を形成する。また、好熱性水素菌 (HT) cyt α_{52} は大腸菌内でドメインスワッピングする。以上のように、ドメインスワッピングに関する知見は増えているが、細胞内でのドメインスワッピングに影響を与える要因についてはほとんど明らかにされていない。本論文では、タンパク質膜輸送機構、レアコドン位置、タンパク質表面電荷及びアポタンパク質が *c* 型 cyt のドメインスワッピングに与える影響を調べた。本論文で得られた成果は以下の通りである。

1. タンパク質の膜輸送機構には、翻訳時輸送と翻訳後輸送の 2 種類があるが、HT cyt α_{52} 及び緑膿菌 (PA) cyt α_{51} において膜輸送機構の異なるタンパク質高発現系をそれぞれ構築したところ、大腸菌内で形成される多量体量は膜輸送機構で大きく変化せず、タンパク質膜輸送機構はドメインスワッピングに直接関与してないことが明らかとなった。また、プラスミド中のタンパク質配列の中心近くの位置にレアコドンを挿入すると、多量体形成量が増大することを明らかにした。

2. ウマ cyt *c* 及び HT cyt α_{52} のタンパク質表面は正に帯電しており、PA cyt α_{51} 及び深海由来好圧好冷性細菌 (SV) cyt α_5 は負に帯電している。ウマ cyt *c* 及び HT cyt α_{52} は大腸菌内で多量体を形成したが、PA cyt α_{51} 及び SV cyt α_5 は形成しなかった。さらに、ウマ cyt *c* 及び HT cyt α_{52} の巻き戻り反応系に表面が負に帯電しているリボソームを添加すると得られるタンパク質多量体量が増大した。一方、PA cyt α_{51} 及び SV cyt α_5 の巻き戻り反応系に負に帯電しているリボソームを添加しても多量体は得られなかった。これらの結果より、負に帯電している膜上で正に帯電している *c* 型 cyt が凝集し、*c* 型 cyt の分子間相互作用が増えることにより多量体量が増大することを提唱した。

3. ホロ cyt *c* 2 量体にアポ cyt *c* を共存させるとホロ cyt *c* 2 量体の単量体への解離速度が増大した。一方、ホロ cyt *c* 単量体にアポ cyt *c* を共存させるとホロ-アポ cyt *c* 複合体が得られ、アポタンパク質が cyt *c* の多量体形成に影響を及ぼすことが明らかとなった。

以上のように、本論文では、レアコドン位置、タンパク質表面電荷及びアポタンパク質が大腸菌内での *c* 型 cyt の多量体形成に影響するが、タンパク質膜輸送機構は大きな影響を及ぼさないことを明らかにした。これらの結果は、生体内におけるドメインスワッピングのメカニズムに新しい知見を与えるものであり、本論文で得られた結果は生体分子科学分野、タンパク質科学分野の研究として高く評価でき、学術的に大きな意義がある。よって、審査委員一同は本論文が博士 (理学) の学位論文として価値あるものと認めた。