

論文内容の要旨

博士論文題目 微小脂質二分子膜バイセルと溶液 NMR の組み合わせによるシトクロム *c* と脂質膜の相互作用解析

氏名 小林 紀

(論文内容の要旨)

シトクロム *c* (cyt *c*) はミトコンドリア膜間部で電子伝達を担うタンパク質であるが、ミトコンドリア内膜中に存在するリン脂質であるカルジオリピン (CL) との相互作用により、アポトーシス誘導に重要なペルオキシダーゼ活性を発現する。cyt *c* と CL の相互作用は cyt *c* の機能変換に関与するとされているが、cyt *c* の CL との相互作用部位や、CL 結合状態の cyt *c* の構造の詳細は不明であった。本論文では、微小な脂質二分子膜であるバイセルに着目し、溶液 NMR を用いた高い空間分解能の解析によって、脂質膜との cyt *c* の動的な結合挙動を明らかにすることを目的としている。

第 1 章では、cyt *c* の構造と機能、これまでの cyt *c* と CL の相互作用に関する知見について説明し、本研究の位置づけを示している。

第 2 章では、CL 含有バイセルを作製してモデル脂質膜として用い、溶液 NMR により cyt *c* の CL 含有バイセル相互作用部位を初めてアミノ酸残基レベルで明らかにした。この cyt *c* の CL 含有バイセル相互作用部位はミトコンドリアでの cyt *c* の酸化還元パートナーである複合体 III や複合体 IV との相互作用部位と類似しており、cyt *c* が酸化還元パートナーと同様の機構で内膜中の CL 分子を認識することが示された。

第 3 章では、cyt *c* の膜結合状態が CL 模倣脂質で作製したバイセルのサイズに依存して変化し、小さいバイセルでは天然様構造、大きいバイセルでは部分変性構造をとるという動的な cyt *c* の膜結合挙動を明らかにした。

第 4 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、バイセルと溶液 NMR を組み合わせた手法により、cyt *c* の CL 含有膜との相互作用部位を特定し、CL 模倣膜との cyt *c* の膜サイズ依存的な動的な結合挙動を明らかにした。cyt *c* の機能変換の分子論的機構の理解に繋がるとともに、タンパク質と脂質膜の相互作用の高い空間分解能での解析手法が提供された。

| | |
|----|------|
| 氏名 | 小林 紀 |
|----|------|

(論文審査結果の要旨)

シトクロム *c* (cyt *c*) はミトコンドリア膜間部で電子伝達を担うタンパク質であるが、ミトコンドリア内膜中に存在するリン脂質であるカルジオリピン (CL) との相互作用により、アポトーシス誘導に重要なペルオキシダーゼ活性を発現する。cyt *c* と CL の相互作用は cyt *c* の機能変換に関与するとされているが、機能変換のメカニズムの詳細は不明である。溶液 NMR は高い空間分解能でタンパク質の相互作用解析が可能な手法であるが、分子量の大きい脂質膜に結合したタンパク質の解析に適用するのは困難であった。本論文では、微小かつサイズ制御可能なモデル脂質膜であるバイセルに着目し、溶液 NMR を用いて膜タンパク質と脂質膜の相互作用解析を行い、cyt *c* の膜結合様式を詳細に解明することを目的としている。本論文で得られた成果は以下の通りである。

1. CL 含有バイセル添加による cyt *c* の NMR 信号の化学シフト摂動解析より、cyt *c* の複数のリシン残基が協同的に CL 含有膜との相互作用に関与していることを明らかにした。この結果は cyt *c* の CL 相互作用部位をアミノ酸残基レベルで明らかにした初めての例であり、バイセルと溶液 NMR を組み合わせた手法がタンパク質と脂質膜の相互作用解析に有用であることが示された。

2. CL 模倣脂質を用いて様々なサイズのバイセルを作製し、これらのバイセルと結合した cyt *c* を溶液 NMR などの種々の分光法で解析することにより、膜結合した cyt *c* がバイセルのサイズに依存して天然様構造と部分変性構造の間で動的に変化することを明らかにした。

以上のように、本論文では、バイセルと溶液 NMR を組み合わせた解析により、cyt *c* の CL 含有膜相互作用部位、さらに cyt *c* と CL 模倣脂質膜との結合挙動の詳細を明らかにした。これらの結果は、生体内における cyt *c* の機能変換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。