

(論文審査結果の要旨)

タンパク質の構造と機能は密接に関係し、生体内で高度に制御されている。シトクロム *c* (cyt *c*) は、ミトコンドリア呼吸鎖の電子移動やアポトーシスの初期過程に関与する球状のヘムタンパク質で、ヘム鉄にはヒスチジン (His18) とメチオニン (Met80) が配位している。Cyt *c* はカルジオリピン (CL) と相互作用すると Met80 がヘム鉄から解離し、ペルオキシダーゼ活性が増大する。ウマ cyt *c* は C-末端の α ヘリックスを連続的にドメインスワッピングすることにより多量体を形成し、cyt *c* 二量体や三量体で Met80 はヘム鉄から解離する。

本論文では、Met80 のヘム鉄からの解離による cyt *c* の反応性や安定性の変化を明らかにすることを目的としている。CL を含むリポソーム存在下での cyt *c* とメタクロロ過安息香酸 (*m*CPBA) の反応解析および cyt *c* 二量体とシアン化物イオンの相互作用様式の解明を行った。本論文で得られた成果は以下の通りである。

1. CL を含むリポソーム存在下で、酸化型 cyt *c* の Met80 が *m*CPBA により選択的に酸化されることを明らかにした。酸化型 cyt *c* と *m*CPBA の反応では、630 nm 付近の吸収強度が増大し、フェリルオキシ種が生成することを示した。さらに、酸化型 cyt *c* がジチオスレイトール存在下で CL を含むリポソームと相互作用すると、Met80 は酸素分子によって選択的に酸化されることも明らかにした。

2. 酸化型 cyt *c* 二量体の紫外可視吸収スペクトルのソーレー帯および Q 帯はシアン化物イオンの添加により短波長シフトし、シアン化物イオン添加によるスペクトル変化から cyt *c* 二量体とシアン化物イオンの結合定数を求めた。シアン化物イオン結合型 cyt *c* 二量体の Fe-CN および C-N 伸縮振動 (ν_{FeCN} , ν_{CN}) の観察にも成功した。シアン化物イオン結合型 cyt *c* 二量体の ν_{FeCN} 振動数は、ヘム近傍に空隙を有する他のヘムタンパク質のシアン化物イオン結合型の ν_{FeCN} 振動数より低く、cyt *c* 二量体へのシアン化物イオンの結合が他のヘムタンパク質より弱いことを明らかにした。Cyt *c* 二量体の二次構造はシアン化物イオンの添加により大きく変化しないが、単量体への解離速度が増加し、解離温度は 2°C 減少することも明らかにした。

以上のように、本論文では、cyt *c* の Met80 - ヘム配位構造が変わると、cyt *c* の反応性が変化することを示した。*m*CPBA による cyt *c* の自己修飾反応や外部配位子による cyt *c* 多量体の不安定化はこれまでに報告されておらず、本論文はヘムタンパク質の構造 - 機能相関に新しい知見を与えるものである。本論文で得られた結果は生体分子科学分野、ヘムタンパク質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。