

提出日：2019年 5月 7日

平成 30 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

(2) 研究成果の概要

課題名	ミトコンドリア呼吸鎖におけるシトクロム <i>c</i> シトクロム酸化酵素間の電子伝達機構の構造化学的解析	
研究代表者	氏名	石森 浩一郎
	所属機関名・部局名	北海道大学・大学院理学研究院
	職名	教授
事業名 (該当の事業名の右欄に○)		共同研究員
	○	超高磁場NMR共同利用研究課題
		クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題
		客員フェロー
蛋白研受入担当教員名	宮ノ入 洋平	
<p>ミトコンドリア電子伝達系では、糖の分解で生じた電子を、内膜に存在する呼吸酵素複合体に次々と受け渡すことで内膜間にプロトン勾配を生成させ、そこで生じる化学ポテンシャルによって ATP を合成している。その電子伝達系の末端に位置するシトクロム <i>c</i> 酸化酵素 (C<i>c</i>O) は、シトクロム <i>c</i> (Cyt <i>c</i>) から供与された電子により分子状酸素を水に還元することで、電子伝達を終結させる。この生命にとって必須である電子伝達反応は、Cyt <i>c</i> と C<i>c</i>O のランダムな衝突ではなく、蛋白質間に働く特異的な相互作用によって制御されていると考えられているが、その詳細は明らかではない。特に、C<i>c</i>O の酸素分子の還元には 4 電子が必要であるにもかかわらず C<i>c</i>O は一電子運搬蛋白質の Cyt <i>c</i> を 1 分子しか結合できないことから、次々と Cyt <i>c</i> を結合、解離させる Cyt <i>c</i> - C<i>c</i>O 間の相互作用制御機構の解明が重要である。先行研究では、Cyt <i>c</i>-C<i>c</i>O 複合体の結晶構造解析からヘム近傍の正電荷残基周辺が相互作用部位であることが示唆されたが、NMR 信号の化学シフト摂動と変異体を用いた活性測定に基づくドッキングシミュレーションからは、結晶構造解析では観測されないアミノ酸残基も相互作用部位であることが示された。そこで今回、蛋白質複合体間界面に存在するアミノ酸残基を同定可能な転移交差飽和法 (TCS 法) を用いて、Cyt <i>c</i>-C<i>c</i>O 複合体における C<i>c</i>O 表面に近い Cyt <i>c</i> 残基の同定を試みた。その結果、Cyt <i>c</i> 表面の 4 つのアミノ酸残基で NMR 信号の強度減少が確認され、結晶構造解析から示されたアミノ酸残基だけでなく、ヘム近傍の疎水性残基 (Ile81) やヘムから遠い正電荷残基 (Lys88) も相互作用している可能性が示唆された。一方で、Cyt <i>c</i> 内部のアミノ酸残基にも NMR 信号の強度減少が観測されたことから、測定中における Cyt <i>c</i> の還元による NMR 信号の強度変化が考えられた。今後は、測定時間内において Cyt <i>c</i> の酸化還元状態が変化しない条件の検討を進め、経時変化のない TCS 測定により Cyt <i>c</i>-C<i>c</i>O 複合体形成に重要なアミノ酸残基を同定することで、Cyt <i>c</i>-C<i>c</i>O 電子伝達複合体間に働く相互作用による結合・解離の制御機構が解明されると期待できる。</p>		

※本様式は、“拠点事業成果報告”として、拠点ホームページにて公開させていただく予定です。

※必ず A4 用紙 1 枚におさめて下さい。 ※提出期限：令和元年 5 月 17 日 (金) ※提出の際は PDF 変換して下さい。

※提出先：大阪大学蛋白質研究所拠点プロジェクト班 E-mail: tanpakuken-kyoten@office.osaka-u.ac.jp