



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Mechanism of Electron Transfer from Cytochrome c to Cytochrome c Oxidase Regulated by Hydrophobic Interaction [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	佐藤, 航
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(理学)
Dissertation Number	甲第13234号
Issue Date	2018-03-22
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/69940
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Wataru_Sato_review.pdf, 審査の要旨



学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士（理学） 氏名 佐藤 航

	主査	教授	坂口 和靖
	副査	教授	武田 定
審査担当者	副査	教授	渡慶次 学
	副査	教授	村越 敬
	副査	教授	石森 浩一郎
	副査	准教授	内田 毅

学 位 論 文 題 名

Mechanism of Electron Transfer from Cytochrome *c* to Cytochrome *c* Oxidase Regulated by Hydrophobic Interaction

（疎水性相互作用で制御されるシトクロム *c* –シトクロム *c* 酸化酵素間の電子伝達機構）

本論文は、細胞内のエネルギー産生過程として生物学的に重要なミトコンドリア呼吸鎖におけるシトクロム *c* (Cyt *c*) からシトクロム *c* 酸化酵素 (CcO) への電子伝達反応について、多様な分光光学手法を駆使してその分子論的解明を目指したもので、5 章から成っている。

第一章では、この電子伝達反応におけるこれまでの研究の概略と未解決のまま残されている諸問題を挙げ、その中から本学位論文では電子伝達反応の機能解析において必須の情報である蛋白質間相互作用に注目し、これまで重要性が示唆されながらも十分に検討されていなかった疎水性相互作用に着目する意義を述べている。

第二章では、Cyt *c*-CcO 複合体の形成における疎水性相互作用の熱力学的意義について検討している。疎水的相互作用を分子レベルで評価することは困難であるものの、本章では古典的な手法である浸透圧を巧妙に応用することで、Cyt *c*-CcO 間の複合体解離定数 K_d の浸透圧依存性から Cyt *c*-CcO で複合体が形成される際には、20 分子程度の水和水がタンパク質表面からバルクへ放出されることを示し、部位特異的な変異体の結果を組み合わせることで、ヘムの近傍の疎水性残基 Ile81 が脱水和を伴って CcO と疎水性相互作用を形成することを明らかにした。さらに、この脱水和に起因するエントロピー増大は、複合体形成における全エントロピー変化の約 60 第三章では、第二章で示された Cyt *c* のヘム近傍疎水性領域で誘起される脱水和の機能的意義について検討するため、タンパク質表面の脱水和を促進するポリエチレングリコール (PEG) を Cyt *c* 溶液中に添加することで、脱水和による電子伝達制御機構の解明を試みている。その結果、Cyt *c* は PEG 存在下において酸化還元電位が低下し、CcO へ電子を供与しやすくなることを見出し、さらに、各種分光法を用いて PEG 添加による Cyt *c* の構造変化を追跡したところ、Cyt *c* のヘム近傍からの脱水和によって、ヘムの側鎖が溶媒側に露出する変化が示された。つまり、Cyt *c* のヘム側鎖近傍領域からの脱水和は還元電位の低下を通して CcO への電子伝達に寄与していると結論付けている。

第四章では第二、三章で明らかになった機構による複合体形成後における Cyt *c* から CcO への電子伝達経路について検討している。過渡的に形成される Cyt *c*-CcO 複合体の構造をドッキングシミュレーションにより推定し、その構造を基に最適な電子伝達経路を理論解析により求めた結果、電子は第二、三章で着目した疎水性残基を介して伝達されることを明らかにした。さらに、変異体の結果も合わせることで、CcO との疎水性相互作用によって Cyt *c* ヘム近傍の Ile81 周辺の水分子が排除され、その結果、形成される両酸化還元中心間の疎水的な領域が電子伝達経路であることを提案している。

第五章では本学位論文において得られた結果や今後の展望をまとめている。本学位論文では、Cyt *c* ヘム近傍の疎水性残基に起因する疎水性相互作用が、CcO との複合体形成の熱力学的駆動力となるだけではなく、その際に誘起される脱水和によって酸化還元電位を低下させ、CcO への電子伝達経路の形成にも貢献していることを明らかにした。以上のような内容の一部は、査読付欧文学会誌である *Journal of Biological Chemistry* 誌に掲載され、学術的意義が国際的にも評価されており、本論文における方法論とそれによって得られた成果は、Cyt *c* から CcO への電子伝達反応の分子機構解明に貢献したのみならず、生体内において重要な役割を担う種々の電子伝達タンパク質の機能制御機構解明にも重要な指針を与えると考えられることから、博士（理学）の授与に値すると判断する。