

Title	Structure of phospholipids in a membrane protein complex, cytochrome c oxidase from bovine heart
Author(s)	水島, 恒裕
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	<a href="https://doi.org/10.11501/3161849">https://doi.org/10.11501/3161849</a>
DOI	10.11501/3161849
rights	
Note	

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

氏 名	水 島 恒 裕
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	第 1 4 9 4 1 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 11 年 9 月 30 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科 高分子科学専攻
学 位 論 文 名	Structure of phospholipids in a membrane protein complex, cytochrome c oxidase from bovine heart. (膜蛋白質複合体、ウシ心筋チトクロム酸化酵素中のリン脂質の構造)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 月 原 富 武 (副査) 教 授 田 代 孝 二 教 授 後 藤 祐 児 助 教 授 松 浦 良 樹

## 論 文 内 容 の 要 旨

リン脂質は、親水性の頭部と疎水性の脂肪酸からなる両親媒性の分子で、これらは生体膜を構成し細胞内環境を維持する働きを持つだけでなく、蛋白質と相互作用することでその状態を保持している。チトクロム酸化酵素はミトコンドリア内膜に存在する、13種類のサブユニット二量体からなる細胞呼吸の末端酸化酵素で酸素を水に還元するとともに水素イオンの能動輸送を行う。また、チトクロム酸化酵素ではミトコンドリア内膜の主要な構成成分であるカルジオリピンが活性に不可欠であることが報告されている。そこで本研究ではリン脂質は膜蛋白質と特異的に相互作用しているか、その結合様式はどのようになっているのか及び、膜タンパク質複合体においてどのような役割をはたしているか、そして生体内におけるリン脂質の絶対構造を決定する事を目的に、チトクロム酸化酵素2.3Å分解能X線結晶構造解析及び質量分析を行った。

X線結晶構造解析は、高エネルギー物理学研究機構巨大分子用ワイセンベルグカメラ BL6A、BL6B で221枚の IP を撮影し重原子同型置換法で行った。蛋白質の構造決定には質量分析の結果を参考として用い、リン脂質の構造を決定した。その結果チトクロム酸化酵素の結晶構造中には、単量体当たりカルジオリピン (CL) 5分子、ホスファチジルコリン (PC) 1分子、ホスファチジルエタノールアミン (PE) 3分子、ホスファチジルグリセロール (PG) 5分子が見つかった。この時結合しているリン脂質から決定したミトコンドリア内膜の厚さは38.2Åであった。リン脂質はリン酸部位や極性を持つ頭部と電荷を持ったアミノ酸との水素結合、脂肪酸部位と疎水性アミノ酸残基による疎水性相互作用により蛋白質と特異的に結合していた。この時、フェニルアラニン等の芳香族を持つアミノ酸が多数存在し、これらの相互作用の中に CH... $\pi$  結合も見つかった。また、構造解析から PG2 を除く全てのリン脂質が複数のサブユニットと相互作用しており、サブユニット間の隙間を埋めることで酵素を安定化し、サブユニット間の接着により四次構造形成を行う補助因子の働きを持っていた。さらにチトクロム酸化酵素の活性に対する関与として CL の疎水性相互作用による二量体の形成、チトクロム c の低親和性結合部位の形成、活性部位であるヘム a<sub>3</sub>、Cu<sub>B</sub> 部位に酸素分子を供給するための酸素貯蔵の役割。 $\alpha$ ヘリックス間にできた空洞を封鎖する事によるプロトン輸送経路の維持などの機能が見つかった。これらのことより膜蛋白質中に含まれるリン脂質は蛋白質の構成成分の一つであると考えられ

る。そして、これらの構造解析によりリン脂質の絶対構造がR体であることが、生体内に含まれるリン脂質で初めて決定した。

このように膜蛋白質複合体において本質的な、リン脂質の働きを明らかにした実験は今回が初めてであり、このことにより今後リン脂質の実験が新たに展開されると期待される。

## 論文審査の結果の要旨

水島君の論文は膜蛋白質複合体であるチトクロム酸化酵素中のリン脂質の構造と機能に関するものである。2.3Å分解能のX線結晶構造解析によって、28カ所に結合しているリン脂質の構造を決定した。その結果、リン脂質はそれまで考えられていたように膜蛋白質の表面を覆っているだけでなく、特異的に蛋白質内部に結合して膜蛋白質の構造保持及び機能の発揮に不可欠な要素であることを初めて明らかにした。また、生体内にあるリン脂質の絶対構造の決定に初めて成功した。この研究は、リン脂質と膜蛋白質との関わりに関する研究の要石になる画期的研究である。よって、この論文は博士（理学）の学位論文として十分価値のあるものと認める。