

Title	Substrate Recognition Mechanism of Molecular Chaperone GroEL
Author(s)	星野, 大
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	<a href="https://doi.org/10.11501/3143767">https://doi.org/10.11501/3143767</a>
DOI	10.11501/3143767
rights	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

氏名	ほし 星の野 まさる 大
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 13653 号
学位授与年月日	平成10年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科生物化学専攻
学位論文名	Substrate Recognition Mechanism of Molecular Chaperone GroEL (分子シャペロン GroELの基質認識機構)
論文審査委員	(主査) 教授 倉光 成紀  (副査) 教授 京極 好正 教授 中西 康夫 助教授 後藤 祐児

#### 論文内容の要旨

天然に存在する蛋白質は、それ自身のアミノ酸配列に含まれる情報により、自発的に生理的機能をもつ特異的に立体構造(ネイティブ構造)へと折れたたまと考えられてきた。しかし、最近の研究により、生体内における蛋白質の折れたたみが、分子シャペロンと呼ばれる一群の蛋白質によって促進されていることが明らかになってきた。分子シャペロンは細胞内に普遍的に存在することが知られており、他の蛋白質の非天然状態を認識・結合し、その折れたたみ反応を助けていると考えられている。分子シャペロンの基質特異性は極めて低く、その基質認識機構は解明されていない。私は分子シャペロンの基質認識機構を明らかにするために、大腸菌由来の分子シャペロン GroEL を用いて、ウマチトクロムcおよびウシβラクトグロブリンとの相互作用について研究した。

まずはじめに、チトクロムcに共有結合しているヘムを修飾することにより、いくつかの構造的特徴の異なる誘導体を作製した。また、βラクトグロブリンの蛍光修飾体、およびそのジスルフィド結合還元体の作製も行った。これらを基質蛋白質としてGroELとの相互作用を調べた結果、様々な程度において結合が観察された。これらの基質蛋白質のうち、中間的な構造をもつ分子種が最も強く相互作用し、より構造化が進むに連れ、また逆に構造がより崩れるに従って、相互作用は弱くなっていった。更にこれらの分子種のGroELに対する親和性は、酸性リン脂質膜に対する親和性に類似していることが分かった。これらの結果から、GroELは、中間的変性状態をとっている基質蛋白質に存在する、溶媒に露出した疎水的なクラスターと相互作用することが示唆された。

次に、同様の実験を溶媒中の塩濃度を様々に変化させて行った結果、溶媒の塩濃度の増加により、チトクロムcとの相互作用はより弱く、βラクトグロブリンとの相互作用はより強くなることが明らかになった。pH7の条件下においてGroELとβラクトグロブリンは同じ電荷をもち、チトクロムcは反対の電荷をもつ。塩濃度に依存したGroEL-基質蛋白質間の相互作用の変化から、両者の結合に静電的相互作用の寄与も存在していることがわかった。

更に、蛍光ストップフロー法を用いた解析の結果、緩和時間にして12.5ミリ秒という速度で反応が進行することがわかった。この値は一般的な蛋白質の折れたたみ反応速度に匹敵することから、ある蛋白質がGroELと相互作用するかどうかは、その蛋白質の平衡論的な構造的な特徴だけでなく、折れたたみ中間体の寿命、つまり基質蛋白質の本質的な折れたたみ速度にも依存する可能性があることが示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

GroELは、蛋白質分子の折れたたみを助ける分子シャペロンの一つである。このGroELが、折れたたまれる過程のどの立体構造の蛋白質と相互作用するかを調べるために、 $\alpha$ -ヘリックス含量の多いチトクロムcと、 $\beta$ -シート含量の多い $\beta$ ラクトグロブリンとを基質として解析した。その結果、GroELは、基質蛋白質が折れたたまれる中間的な立体構造の分子種と強く相互作用すること、および、その相互作用には疎水性の相互作用が大きく寄与する他、静電的相互作用も寄与することが明らかになった。本研究を通して得られた知見は、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。