

(様式 1-2)

提出日：2020 年 5 月 15 日

2019 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>ミトコンドリア呼吸鎖における電子伝達系の末端に位置するシトクロム酸化酵素 (C<i>c</i>O) は、分子状酸素を水に四電子還元することで、その電子伝達系を終結させる生理的に重要な機能を果たしているが、その電子供与体であるシトクロム <i>c</i> (Cyt <i>c</i>) からの電子伝達過程は、C<i>c</i>O が巨大分子量膜蛋白質であるため、その制御機構は不明である。研究代表者らは、この Cyt <i>c</i> と C<i>c</i>O との間の電子伝達複合体の構造化学的解析を試み、電子伝達複合体における Cyt <i>c</i> の <sup>15</sup>N-<sup>1</sup>H HSQC スペクトルの測定に成功し、その蛋白質間相互作用様式や相互作用アミノ酸残基の同定、さらには緩和測定による複合体形成と蛋白質ダイナミクスの相関を検討してきた (<i>Biochem. Biophys. Res. Commun.</i>, <b>2010</b>, <i>398</i>, 231; <i>Proc. Natl. Acad. Sci. USA</i>, <b>2011</b>, <i>108</i>, 12271; <i>Biochem. Biophys. Res. Commun.</i>, <b>2016</b>, <i>469</i>, 978)。しかし、これまでの NMR による相互作用部位の同定は化学シフト摂動 (CSP) 法に基づく解析であり、C<i>c</i>O 添加による Cyt <i>c</i> の化学シフトは、直接 C<i>c</i>O と相互作用しているアミノ酸残基だけではなく、C<i>c</i>O との複合体形成に伴って間接的に構造変化などの摂動を受けるアミノ酸残基まで検出されるため、C<i>c</i>O と直接相互作用している部位を反映していない可能性がある。実際に CSP で同定された Cyt <i>c</i> の C<i>c</i>O に対する相互作用部位は、これまで想定されたよりも広範囲にわたっており、間接的に摂動を受けるアミノ酸残基も含まれている可能性が高い。本研究では、C<i>c</i>O と直接相互作用しているアミノ酸残基を同定するため、移動交差飽和法 (TCS 法) を試みた。<sup>15</sup>N と <sup>2</sup>H を含む培地を用いて発現、精製した Cyt <i>c</i> を非標識の C<i>c</i>O 存在下、TCS 測定を行ったところ、いくつかのアミノ酸残基に飽和パルス照射によるシグナル強度の低下が観測された。しかし、このようなシグナルの強度減少を示したアミノ酸残基には、CSP 法で同定された相互作用部位から離れた残基や蛋白質内部の残基も含まれ、非特異的なスピン拡散が起こっていることも想定された。今後は飽和パルスの照射位置や出力を検討するとともに、添加する C<i>c</i>O に対する Cyt <i>c</i> の量比など、測定条件の最適化が必要である。</p>		