

学位論文抄録

ミトコンドリア内膜AAAシャペロンBcs1の機能解析

(Functional analysis of Bcs1, a AAA chaperone in the mitochondrial inner membrane)

澤村理英

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻分子細胞制御学

指導教員

小椋光教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻分子細胞制御学

学位論文抄録

[目的]

近年、AAA (ATPases Associated with various cellular Activities) タンパク質に起因するヒト疾患が数多く報告されている。BCS1L は、その変異が毛髪異常や感音性難聴 (Björnstad 症候群) または深刻な多臓器不全 (複合体Ⅲ欠損症や GRACILE 症候群) を引き起こすミトコンドリア内膜に存在する AAA タンパク質である。これらの疾患を発症するメカニズムや BCS1L の分子機能などについては不明な点が多い。一方、酵母の BCS1L ホモログである Bcs1 では比較的解析が進んでおり、呼吸鎖複合体Ⅲの会合に関与していることが明らかとなっている。そこで本研究では、酵母 Bcs1 について遺伝・細胞・生化学的解析を行った。

[方法]

BCS1L ホモログは呼吸鎖活性に必須なタンパク質であることから、機能欠損した細胞は著しい増殖阻害を示すため解析が困難である。一方、出芽酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) は、適切な炭素源を培地に用いることによって、ミトコンドリア呼吸鎖活性を失っても増殖可能である。つまり、酵母はミトコンドリア呼吸鎖に必須な因子の解析に適している。また、遺伝学的手法が確立していることから様々な変異株を用いた解析が容易である。さらに、酵母 Bcs1 とヒト BCS1L はアミノ酸配列がよく保存されており、酵母 $\Delta bcs1$ 株をヒトホモログ BCS1L が相補できることから、機能的にも保存されている。酵母 Bcs1 の研究で得られた結果は、BCS1L 変異に起因するヒト疾患発症機序の理解に役立つものと考えられる。そこで本研究では、様々な Bcs1 変異体を発現する酵母株を作製し、Bcs1 のどの領域がその活性に必要であるか調べた。

[結果]

Bcs1 は、ミトコンドリア内膜に局在する 1 回膜貫通型タンパク質である。タンパク質の大部分 (C 末端領域) はマトリクス側に存在し、Bcs1 の機能やミトコンドリアへの局在化に必須である。これに対し、膜間部側に突出している N 末端領域の役割は不明であった。そこでこの領域を欠失した Bcs1 変異株を作製したところ、N 末端 44 残基のうち 38 番目の残基以降が必須であることが明らかになった。38~40 番目の残基、特に 38 番目の残基の欠失が Bcs1 の機能に最も影響を与えた。38 番目の残基を他のアミノ酸に置換したところ、親水性の強いアミノ酸ほど機能不全を示すことが分かった。二次構造予測により、38 番目の残基を含む領域は α ヘリックス構造を形成していることが分かった。プロリン変異の導入により、 α ヘリックスを破壊したところ、Bcs1 は機能不全を示した。したがって、N 末端領域のうち 38 番目の残基以降の疎水性アミノ酸を含む α ヘリックス構造が Bcs1 の機能に必須であることが分かった。

これまでの研究から、Bcs1 は鉄硫黄タンパク質 (Rip1) の未成熟複合体Ⅲへの会合に必須であることが分かっている。機能不全を示す Bcs1 の N 末端欠失変異株から単離したミトコンドリアでは、Rip1 を含まない未成熟複合体Ⅲの蓄積が観察され、未会合 Rip1 はマトリクスに蓄積していることが分かった。さらに、化学架橋実験では、機能不全を示す N 末端変異 Bcs1 は野生型と比較して相互作用タンパク質との相互作用様式が異なることが分かった。

[考察]

Bcs1 の膜間部領域が、Rip1 のマトリクスから内膜の未成熟複合体Ⅲへの会合に関わると考えられ、内膜を隔ててどのように関わるのか興味深い。また、Bcs1 の N 末端変異により相互作用因子との結合が変化することから、この相互作用因子を同定することで Bcs1 の作動メカニズムが明らかになると期待される。

[結論]

これまで機能的重要性が不明であった Bcs1 の N 末端膜間部領域が機能に必須であり、特に α ヘリックス構造を持つことが重要であることを明らかにした。この N 末端領域は Rip1 のマトリクスから内膜の未成熟複合体Ⅲへの会合に重要であり、相互作用因子との結合に関与していることが分かった。