

## 澤村 理英 氏の学位論文審査の要旨

### 論文題目

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)

Ubiquinol-cytochrome c reductase (bc1) synthesis (Bcs1)はヒト BCS1L の酵母ホモログで、ATPases associated with various cellular activities (AAA) タンパク質の一種であり、ミトコンドリア内膜の呼吸鎖複合体 III の形成に関与している。中でも、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示されてきた。ヒト BCS1L 変異症例では、毛髪異常、感音性難聴や多臓器不全症が観察されるが、その病態発症機構はいまだに不明である。ヒトの BCS1L 欠損細胞が著しい増殖障害を示すため研究が困難なことがその理由の一つである。出芽酵母 Bcs1 欠損細胞は、炭素源にグルコースを用いると解糖系のみで増殖する一方で、炭素源に乳酸を用いると増殖できないという特徴を示す。申請者は、この特徴を活用して、Bcs1 がどのような分子機構で Rip1 を未成熟複合体 III と会合させているのかという問題に迫ろうとした。

Bcs1 は、単一の膜貫通領域でミトコンドリア内膜に局在しており、C 末端側に位置する AAA タンパク質本体はマトリックス側に存在している。一方、内膜と外膜との膜間領域に位置する N 末端領域の重要性はこれまで検討されてこなかった。申請者はこの N 末端部位にさまざまな変異や欠損を導入することにより、Leu38 を含む 12 アミノ酸残基からなる  $\alpha$ ヘリックス構造が Rip1 を未成熟複合体 III に会合させるのに不可欠であり、その構造を失うと Rip1 は内膜のマトリックス側にとどまったままであることを初めて明らかにした。さらに、架橋化剤で処理すると 6 量体構造の Bcs1 の見かけの分子量が 2 倍ほどに増加することも見出した。これらの結果に基づき、Bcs1 は N 末端領域を介して、12 量体の構造になるか、もしくは未知のタンパク質分子と相互作用することで、Rip1 を未成熟複合体 III に会合させているという新たな仮説を提唱した。

審査においては、ヒト先天障害症状の臓器局在と臓器細胞のミトコンドリア依存性度との関係、免疫染色による Bcs1 のミトコンドリア内局在観察の可能性、酸素電極を用いた機能観察の可能性、ATP を消費して ATP を産生させる生物学的経済性、Bcs1 分子構造における AAA タンパク質としての共通性と特異性、Bcs1、Rip1 と複合体 III 間の分子数比、Bcs1 自体の内膜への挿入機構、ミトコンドリアストレスの影響、Bcs1 の会合相手研究の進捗状況などに関する質問があり、ほぼ的確な回答が得られた。

本研究は、呼吸鎖複合体 III 生合成機構に関して新たな知見をもたらし、学位に値すると評価した。

審査委員長 分子病理学担当教授 山本 哲郎

(署名)

山本哲郎