

## 学位論文審査の結果の要旨

氏名	Tiezhong Cui
審査委員	主査 川向 誠 副査 中川 強 副査 戒能 智宏 副査 松下一信 副査 山野好章
題目	コエンザイム Q10 結合タンパク質とコエンザイム Q10 生合成系酵素の解析
審査結果の要旨 (2,000字以内)	
<p>コエンザイム Q は、電子伝達系における必須因子であり、その合成や制御系の研究は細胞内代謝系を理解する上で非常に重要である。これまでにコエンザイム Q 合成系の研究は大腸菌と出芽酵母を中心に行われてきており、今までに多くの <i>COQ</i> 遺伝子が同定されている。現在では特に、機能未知の <i>COQ</i> 遺伝子の機能解明と Coq 複合体の解析が中心に行われている。一方、コエンザイム Q 合成の制御系は未だ完全には解明されていない。特に、ミトコンドリアにおけるコエンザイム Q プールがどのように維持、制御されているかは不明である。本論文では、上記の未解明な点の解明を目指して研究を行った。</p> <p>まず、人工的なポリプレニルニリン酸合成酵素 (PDS) の解析を行なった。PDS はコエンザイム Q の側鎖合成と鎖長の決定を担っている。PDS は、ホモ型 (大腸菌の <i>IspB</i> や出芽酵母の <i>Coq1</i> など) とヘテロ型 (分裂酵母やヒトなどの <i>Dps1</i> と <i>Dlp1</i>) に分類される。<i>Dps1</i> のアミノ酸配列は、これまでに知られているホモ型の PDS と保存性が高く、<i>Dlp1</i> はそれほど保存性が高くないが、<i>Dps1</i> の活性の発現には <i>Dlp1</i> が必要である。驚くべきことに、大腸菌の <i>IspB</i><sup>R321A</sup> 変異型温度感受性株で <i>dps1</i> か <i>dlp1</i> 遺伝子を発現させると、高温で野生型と同じ増殖を示し <i>IspB</i> 活性の回復と <i>Coq8</i> の合成が見られた。さらに、<i>IspB</i> と <i>Dlp1</i> (または <i>Dps1</i>) は、高分子量複合体を形成し <i>IspB</i> を安定化することで機能回復していると考えられた。<i>Dlp1</i> (または <i>Dps1</i>) は単独で機能しないのにもかかわらず、温度感受性 <i>IspB</i> の機能を回復することができることから、PDS の機能と進化における重要な知見が得られた。</p>	

次に、分裂酵母のQの機能性に重要な役割を果たすコエンザイムQ結合タンパク質について解析を行なった。コエンザイムQはミトコンドリア膜にフリーな状態で存在しているとこれまで考えられてきたが、出芽酵母でCoq10と呼ばれるミトコンドリア局在のQ結合タンパク質が発見され、これまでの知見を揺るがす可能性が示唆された。そこで申請者は、分裂酵母のCoq10タンパク質の解析を行った。分裂酵母の*coq10*破壊株は、最少培地での生育に抗酸化剤が必要であることや過酸化水素に対する感受性、硫化水素の発生、呼吸欠損などの、少し弱いながらも他のQ欠損株と同様の表現型を示した。*coq10*破壊株はほとんど野生型と変わらないCoQ10合成能を持つことから、*coq10*遺伝子はQ合成そのものには関与していないと考えられる。Coq10の機能解明のため、申請者は大腸菌で*coq10*遺伝子を発現させ、Coq10がQ8と結合することを証明した。他生物種のCoq10と保存性の高い13個のアミノ酸のうち63番目のリジンと104番目のトリプトファンがコエンザイムQ結合に重要な役割をしていることを示した。さらに、これらの二重変異体(L63A/W104A)は、それぞれの変異体よりコエンザイムQ結合能が減少し、*coq10*破壊株での相補能も消失することを見いだした。ヒトCoq10は、分裂酵母*coq10*破壊株で機能することから、Coq10は様々な生物で呼吸鎖の機能に重要であることが示唆された。

以上の結果から、以下の結論が得られた。(1) 分裂酵母Dps1やDlp1は大腸菌IspBと高分子複合体を形成することで安定性を強化できることから、PDSの保存性や進化において機能性が維持されていることが示唆された。(2) Coq10タンパク質は、コエンザイムQに結合するタンパク質で、ミトコンドリアの呼吸鎖の正常な機能に必須であることを明らかにした。以上の結果から、申請者はCoq10タンパク質がミトコンドリア膜における呼吸鎖複合体の維持あるいは電子伝達系に必須な機能を有しているという説を提起している。

以上の結果はCoQ結合タンパク質の性質と側鎖合成酵素の新たな側面を示した優れた研究成果であり、本論文は博士(農学)の学位論文に値すると認められる。