

Thermus thermophilus HB8 由来ダブル α c型シトクロムの以前のデータを再評価し、
膜でのタンパク質分解の一面を覗く

**Revaluating previous data on double- α c-type cytochrome from *Thermus thermophilus*
HB8 reveals one aspect of membrane-bound protein decomposition**

本波康由¹, 中島広志², 高宮信三郎³

Koyu Hon-Nami¹, Hiroshi Nakashima², Shinzaburo Takamiya³

(¹東京電力, ²金沢大・医, ³順天堂大・医)

(¹TEPCO, ²Kanazawa Univ., ³Juntendo Univ.)

e-mail: koyu.honnami@tepcoco.jp

呼吸とそれに共役した酸化リン酸化は生物界に広範に分布し、生物進化の過程で成立した重要な生物のエネルギー変換系である。これらの構成成分はタンパク質複合体を形成し、結晶化による立体構造の解析をベースに、その機構解明が精力的に展開されている。このエネルギー代謝系は依然として生物進化、および病気との関係から関心が高く、また複合体IVは生体内の酸化還元状態観察用のセンサーへの応用に、複合体Vは現存の最小モーターとしてナノテクの材料の観点からも関心が持たれている。

これら複合体の中で立体構造が唯一未解析であった複合体Iに関しては、昨年より高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 からその解析結果が、親水性領域に限定されてはいるが報告され始めた [1, 2]。この株の複合体Iの研究は単離の報告以来、かなりの蓄積がある。また、この株でのエネルギー獲得系に関する蓄積は多く、複合体I以外の複合体の知見は、次のとおりである。(i)実体が未解明である複合体IIについてはコハク酸脱水素酵素活性の測定報告以外は殆どなく、複合体III cytochrome (cyt) complexについては最近その単離とサブユニット構成がドイツのグループから報告された [3]。(ii)複合体IVの知見はかなり上り、*caa3*型の報告以来、その後の異なる型*ba3*の報告と合わせて研究が継続されている。一方、複合体VについてはV型が1990年に初めて報告され、その後研究が進展している。各複合体の結晶構造解析については、前述の複合体Iの他、複合体IV、即ちcyt c 酸化酵素の1つである*ba3*型が解明され、更に複合体Vにおいて、中心軸であるサブユニットCを含む親水性部分を中心に立体構造解析が進行中である。各複合体を繋ぐ成分として、この菌ではmenaquinoneとペリプラズムに局在するcyt c-552が知られており、後者の構造解析は終了した。

この細菌のゲノム解析は近縁株 HB27 と共に終了し、モデル生物としてその包括的理解に向けて精力的に研究が展開されていることは周知のとおりである。上記の研究現状の下で、この株から各複合体の結晶を一揃いで提供することは、呼吸と酸化リン酸化のエネルギー変換系に関する構造・機能の更なる解明の上で、異種間での互換性の問題に煩わされることがなく非常に意義がある。

ところで、前述 [3] の複合体III、即ちcyt *bc₁* complexの分離・解析において、ドイツのグループは構成成分の1つであるcyt *c₁*のC端部の組換え発現体、つまりヘムcを含むアミノ酸88残基から成るタンパク質を調製し、その吸収スペクトルが還元型の α 吸収体において二重のピークを示す既報のcyt c-555, 549 (cyt c-D α) [4]のものとは一致したと記述している。同論文では併せて以下の事柄を報告した。

- (1) cyt *bc₁* complexにおいて規範的なサブユニットであるcyt *b*とFeSが存在し、更に機能が不明なユニークな成分(FbcX)が存在すること。
- (2) cyt *c₁*に関して、発現産物としてタンパク質の実体を確認したこと。

Ttc1	SPAAERIAEEVAPPAQEAQAHHGGGQEAAPAGVDPALMEKGAIEAN-----CAACH
Ttc552	MKRTLMAFLLLGG-----ALAQADGAKIYAQ-----CAGCH
Pdc550	MKISIIYATLAAITLALP-----AAQDGDAAKGEKEFNK-----CKACH
Rsc2	MKFQVKALAAIAAFAALP-----ALAQEGDPEAGAKAFNQ-----CQTCH
Rrc2	MKKGFLAAGVFAAVAFASGA-----ALAEKDAAAGEKVSKK-----CLACH
Rcc1	MKKLLISAVSALVVGSGA-----AFANSNVPDHAFSFEFIFGKYDQAQLRRGFQVYNEVCSACH

図. 好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 の cytochrome c_1 の予想切断部位の配列および典型的な signal peptide を有する他の cytochrome c の配列の並置。表記の配列は、Ttc1 は Ser-123 から His-175 (第 5 配位子) まで、その他については N 末端から第 5 配位子の His 残基までである。下線部はプロセス後の N 末端部の配列である (但し、Ttc1 については、可能性のある配列)。酸性および塩基性アミノ酸は、それぞれ青、赤で表示した。Ttc1, *T. thermophilus* HB8 cytochrome c_1 ; Ttc552, *T. thermophilus* HB8 cytochrome c -552 (ACCESSION Q5SME3); Pdc550, *Paracoccus denitrificans* cytochrome c -550 (P00096); Rsc2, *Rhodobacter sphaeroides* cytochrome c_2 (Q3J164); Rrc2, *Rhodospirillum rubrum* cytochrome c_2 (Q2RVM4); Rcc1, *Rhodobacter capsulatus* cytochrome c_1 (P08501)。

(3) この cyt c_1 の二次構造予測から、タンパク質として長く伸びた親水性の N 端部分に続いて、疎水的で多分膜に埋込まれる helix 領域が存在し少なくとも 12 残基のアミノ酸配列を持つこと、そしてその後典型的な h_{em}c 結合部分を持つ親水部へと続くこと。

そこで、cyt c -D_α の以前の報告データ[4-6]を再度評価したところ、報告したアミノ酸組成は cyt c_1 の C 端部の 92 残基のものにはほぼ一致し、また分子量および等電点共に近いことから、cyt c -D_α は cyt c_1 の C 端部の切断タンパク質であることが分かった。

本論では、上記の他に、(1) cyt c -D_α は、単なる切れ端ではなく機能性を有した構造を保持しており、cyt c_1 は本株における膜タンパク質分解の基質モデルとなり得ること、(2) ドイツのグループの結果は基本的に cyt c -552 は *caa3* 型酸化酵素の基質の 1 つであることを支持することを述べ、上記の切断サイト(図)と切断メカニズムに関して考察する。

References

- [1] Hinchliffe, P., and Sazanov, L.A. (2005) *Science* **309**, 771-774.
- [2] Sazanov, L.A., and Hinchliffe, P. (2006) *Science* **311**, 1430-1436.
- [3] Mooser, D., Maneg, O., Corvey, C., Steiner, T., Malatesta, F., Karas, M., Soulimane, T., and Ludwig, B. (2005) *Biochim. Biophys. Acta* **1708**, 262-274.
- [4] Hon-Nami, K. (1979) *J. Biochem.* **86**, 1687-95.
- [5] Hon-Nami, K., and Oshima, T. (1978) *J. Biochem.* **83**, 629-631.
- [6] Hon-Nami, K., and Oshima, T. (1980) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **92**, 1023-1029.