

## 審査の結果の要旨

氏名 金 光植

コエンザイム Q10 (CoQ10) は、真核細胞ミトコンドリア呼吸鎖の電子伝達因子の一つであり、ATP 産生に必要不可欠である。CoQ10 は生体脂質のフリーラジカル酸化を抑制する上でも欠かせないため、すべての細胞内外にユビキタスに存在している。CoQ10 はミトコンドリア内膜などで生合成されるが、CoQ10 の細胞内外への輸送システムについては不明であった。CoQ10 は加齢とともに細胞内濃度が減少することが明らかになっており、そのバイオアベイラビリティを向上させることが緊急の課題ともなっている。そこで本論文は、輸送の鍵となる CoQ10 の結合タンパク質を明らかにし、その機能を解明することを目的としているが、全 7 章により構成されている。

第一章は序論であり、CoQ10 の生理機能を ATP 産生と抗酸化の観点からまとめている。さらに、これまでの CoQ10 の体内動態及び細胞内動態に関する研究を総括し、CoQ10 結合タンパク質の存在を予想している。そして実際に単離・精製された CoQ10 結合蛋白質の重要性と意義について述べている。

第二章では、ヒト尿から陰イオン交換、ゲルろ過、疎水性クロマトグラフィーにより CoQ10 結合蛋白質を単離・精製した結果について述べている。精製した CoQ10 結合蛋白質は、エドマン分解法による N-末端のアミノ酸配列解析により、サポシン B と同定している。サポシン B の機能解析のために疎水性、陰イオン交換、ゲルろ過クロマトグラフィーを用いた大量精製法に言及している。

第三章では、細胞内でサポシン B と CoQ10 の複合体が存在することを確認するために作成した 3 種のサポシン B 抗体 (ペプチド抗体、ポリクロナール抗体、モノクロナール抗体) について述べている。これらの抗体を用いて、ヒト肝がん細胞由来の HepG2 細胞とヒト精子においてサポシン B-CoQ10 複合体が検出できたことを述べている。さらに、HepG2 細胞では細胞分画 (核、粗精製ミトコンドリア、サイトゾル) を試みており、いずれの分画においてもサポシン B-CoQ10 複合体を検出している。特にサイトゾルで検出されたことはサポシン B が CoQ10 の細胞内輸送に関与していることを強く示唆すると述べている。

第四章では、サポシン B と CoQ10、CoQ9、CoQ7、 $\alpha$ -トコフェロールとの結合能がこの順に低下することから、結合能が側鎖長に依存すると述べている。サポシン B と CoQ10 の結合、解離、再結合を等電点クロマトグラフィーを用いて

確認している。サポシン B と CoQ10 の結合能には pH 依存性があり、酸性では弱く、中性で強く結合することを述べている。一方、アルブミンは CoQ10 を結合することは出来ず、これがサポシン B に特有の性質であることを述べている

第五章では、サポシン B-CoQ10 複合体から生体膜への CoQ10 の供与能について述べている。その供与能には pH 依存性があり、酸性で強く、中性で弱くなるが、こうした性質を利用してサポシン B が細胞内で CoQ10 を各オルガネラ膜との間で受け渡ししている可能性について述べている。

第六章では、サポシン B と CoQ10、 $\gamma$ -トコフェロール、 $\alpha$ -トコフェロールとの結合能について詳細に検討している。そして、サポシン B が CoQ10 のみならず、 $\gamma$ -トコフェロールの特異的な結合蛋白質であると述べている。 $\gamma$ -トコフェロールは肝臓細胞リソソームに取り込まれた後、小胞体で代謝されるが、リソソームから小胞体までの輸送蛋白質は明らかにされておらず、サポシン B がその役を担うのではないかと述べている。

第七章では、本論文の総括と展望について述べている。

以上のように、本論文は CoQ10 結合蛋白質がサポシン B であることを初めて明らかにし、ヒト細胞内で実際にサポシン B が CoQ10 を結合していることも確認した。さらには CoQ10 の結合能や他の生体膜への供与能の pH 依存性を明らかにし、細胞内 CoQ10 輸送の特性を予想した。また、サポシン B が CoQ10 のみならず  $\gamma$ -トコフェロールの結合蛋白質であることも明らかにした。以上の成果は懸案となっている CoQ10 や  $\gamma$ -トコフェロールのバイオアベイラビリティ向上を図る上での重要な手がかりとなる可能性が大であり、生命工学の発展に大きく寄与するところが多い。

よって本論文は博士（工学）の学位請求論文として合格と認められる。