

【目的】ミトコンドリア NADH-ユビキノン酸化還元酵素（呼吸鎖複合体-I）は、呼吸基質の酸化還元を駆動力とするプロトンポンプであり、エネルギー代謝（ATP 合成）に必須のプロトン電気化学的ポテンシャルを形成する。本研究では、ウシ心筋ミトコンドリアを生物材料として、光スイッチ分子を複合体-I のキノン結合ポケットに導入し、光照射によってプロトン輸送活性を誘導し、複合体-I を“酸化還元駆動型”から“光駆動型”のプロトンポンプに機能変換することを目指した。複合体-I を光駆動型プロトンポンプに機能変換することができれば、本酵素の作動メカニズムの解明に向けた全く新しい方法論を提示できるだけでなく、ミトコンドリアや細胞レベルのエネルギー代謝を光で制御することが可能な新技術の開発に繋がり、生化学分野におけるその意義と将来的な波及効果は極めて大きい。

【方法】複合体-I のプロトン輸送のメカニズムについては、『キノンの還元反応によってキノン結合ポケット内に構造変化が生じ、これが駆動力となって膜ドメインに伝搬してプロトンが輸送される』と考えられており（下図 B）、キノン結合ポケット最深部に位置する 49 kDa サブユニットの Asp160（49 kDa・Asp160）の動きが、膜ドメインでのプロトン輸送のトリガーとなる構造変化に重要な寄与をしている。我々は、複合体-I 阻害剤モチーフとした合成リガンド分子を活用して、49 kDa・Asp160 にピンポイントでアゾベンゼンのような光スイッチ分子を導入することで、キノン結合ポケットの構造変化を光照射で可逆的に発生させ、プロトン輸送活性を誘導することを目指した。

【結果】“トシル化学法”と呼ばれるタンパク質化学修飾法を利用して、キノン結合ポケットを構成する 49 kDa・Asp160 に対してピンポイントでシクロプロペン化し、これを足場としてテトラジンを有する 2 次タグ分子を導入する方法論を確立した。現在、図に示した光スイッチ部分の合成を行なっている段階であり、残念ながら、研究期間内に合成を完了させられなかったが、1 日も早く光スイッチによる複合体-I の光制御を実現したい。

複合体-I の化学修飾 (A) と光操作 (B) の模式図

