



# グローバルCOEプログラム 生命科学 若手研究者発表会

兵庫県立大学大学院・生命理学研究科・生命科学専攻における文部科学省グローバルCOEプログラムの活動の一環として「グローバルCOEプログラム・生命科学若手研究者発表会」を下記のとおり開催いたします。公開で行いますので御参加下さい。会場にてご意見などいただくと幸いです。

拠点リーダー 吉川 信也

日時 平成22年 **6** 月 **7** 日 (月) 17:00 ~ 19:00

場所 先端科学技術支援センター 大ホール (<http://www.cast.jp/>)

発表分野 細胞制御学 II 分野 (吉川研究室)

## 呼吸の仕組みに迫る

### ミトコンドリア呼吸鎖複合体の構造と機能

#### 1. NADH- ユビキノン還元酵素 (複合体 I) の結晶化

天野 聡子 (大学院博士後期課程 2 年)

#### 2. $F_0F_1$ -ATP 合成酵素 (複合体 V) の全体構造の解明を目指して

三枝 馨 (大学院博士前期課程 2 年)

#### 3. チトクロム酸化酵素 (複合体 IV) の X 線結晶構造解析による原子レベルでの反応機構

矢野 直峰 (大学院博士後期課程 1 年)

藤澤 秀徳 (大学院博士前期課程 1 年)

## 要 旨

生物は取り入れた栄養物を分解し最終的にはミトコンドリアで  $O_2$  を用いて燃焼し、生命活動に必要なエネルギーを獲得している。この効率のよいエネルギー獲得を可能にしているのが、ミトコンドリア内膜に存在する呼吸鎖複合体である。我々は呼吸の仕組みに迫るため、各々の複合体を精製し、構造と機能の研究に取り組んでいる。本発表では、複合体 I、V、IV についての研究成果について発表する。

- 呼吸鎖の最上流部に位置し、NADH からユビキノンへと電子伝達すると共にプロトンポンプ機能を担う複合体 I は分子量 1,000kDa で L 字型をしている。本酵素は非常に不安定であるが、15 年来検討を重ねてきた精製法でウシ心筋から精製された高純度酵素は脂質膜中では安定化され易かったことから、脂質を用いた 2 次元及び 3 次元結晶化に取り組んでいる。これまでに脂質、脂質溶解に用いる界面活性剤、添加する塩の種類等の詳細な検討を行い電子線回折データの収集が可能なレベルの 2 次元結晶が得られた。
- $F_0F_1$ -ATP 合成酵素は、ミトコンドリア内膜中の各電子伝達複合

体で形成されたプロトン濃度勾配を利用して、ADP と無機リン酸から ATP を合成する。現在までに、膜から突出した  $F_1$  部分と膜に埋もれた  $F_0$  部分からなる特徴的な形状が認められているが、精製の困難さ故に  $F_0$  部分を含んだ全体構造は未だに不明である。我々はウシ心筋から全体構造を保持した非常に高純度な  $F_0F_1$ -ATP 合成酵素の精製法を確立し、2 次元結晶を用いた電子線構造解析を試みている。また、色素をもたない本酵素の非共鳴ラマンスペクトルの測定を可能にし、基質結合による構造変化の検出を行っている。

- チトクロム酸化酵素は、呼吸鎖電子伝達系末端において  $O_2$  還元反応と共役したプロトンポンプ機能を担うエネルギー変換膜タンパク質である。反応機構を物理化学的に明らかにすることを目指して、X 線構造解析により反応過程における本酵素の立体構造変化を原子レベルで決定した。決定された構造に基づき、活性酸素種を出さずに効率良くエネルギー変換をする仕組みを提唱した。さらに、水素原子レベルの高分解能構造解析によりプロトン輸送経路のプロトン化状態決定を進めている。