

京都大学教育研究振興財団助成事業  
成果報告書

平成26年7月31日

公益財団法人京都大学教育研究振興財団  
会長 辻井 昭雄 様

所属部局・研究科 農学研究科

職名・学年 特定研究員

氏名 一丸 直哉

助成の種類	平成26年度・若手研究者在外研究支援・国際研究集会発表助成		
研究集会名	第18回ヨーロッパ生体エネルギー会議		
発表題目	ミトコンドリア呼吸鎖複合体-Iの位置特異的化学修飾法の確立		
開催場所	ポルトガル, リスボン, リスボン大学理学部		
渡航期間	平成26年7月11日 ~ 平成26年7月19日		
成果の概要	タイトルは「成果の概要／報告者名」として、A4版2000字程度・和文で作成し、添付して下さい。「成果の概要」以外に添付する資料 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> 有( )		
会計報告	交付を受けた助成金額	250,000円	
	使用した助成金額	250,000円	
	返納すべき助成金額	0円	
	助成金の使途内訳	参加費・滞在費	128,797円
		航空券代	173,060円
上記のうち250,000円を本助成金によって支払った。			
当財団の助成について	(今回の助成に対する感想、今後の助成に望むこと等お書き下さい。助成事業の参考にさせていただきます。) 入金までのスムーズな対応に大変感謝しています。		

## 成果の概要／一丸直哉

報告者の参加した第 18 回ヨーロッパ生体エネルギー会議は、平成 26 年 7 月 12 日から平成 26 年 7 月 17 日の 6 日間にわたり、ポルトガルの首都リスボンにキャンパスを構える、リスボン大学理学部で開催されました。総勢 430 名に及んだ参加者の多くはもちろんヨーロッパ出身、あるいはヨーロッパに研究の拠点を置く研究者でありましたが、報告者を含めたアジア・オセアニア地域や、北中南米地域からの参加者も目立ち、想像以上に開放的な雰囲気の中で研究の発表がなされた、という印象を受けました。7 月のポルトガルのさわやかな気候も、その一因であったかも知れません。全日程において空は青く澄み渡り、心地よい風が吹いていました。

本会議では「生体エネルギー」という名の通り、呼吸によってエネルギーを取り出すという生命の根源的な現象を追究する者が集い、熱い議論を交わしました。報告者はミトコンドリアに存在する呼吸鎖酵素やそれに関わる基質の輸送を担う膜タンパク質に興味を持っており、今回は「ミトコンドリア呼吸鎖複合体-I の位置特異的的化学修飾法の確立」という題目で、7 月 14 日の 13 時から 15 時 30 分にかけて、1 件のポスター発表を行う機会を与えられました。ここに登場する「呼吸鎖複合体-I (複合体-I)」とは、ミトコンドリアやバクテリアの呼吸鎖電子伝達系の初発酵素のことで、基質である NADH とユビキノンの酸化還元反応、およびそれに共役したプロトン輸送を行っています。

発表の概要は以下の通りです。2010 年に好熱細菌複合体-I の全体構造が明らかにされてから、この酵素の分子レベルでのメカニズム解明が焦点となってきました。この課題に対してはいわゆる「1 分子計測」が威力を発揮するものと期待されますが、未だ誰も着手できていません。そこで本研究では、1 分子計測によって複合体-I の分子メカニズムを解析することを将来的な目標に見据え、酵素の鍵サブユニットを機能性プローブで位置特異的に化学修飾することを試みました。まず、複合体-I の最も強力な阻害剤であるアセトゲニンを鋳型として、分子末端にアルキン構造を有する機能性プローブをデザイン合成し、このプローブが良好な阻害活性を維持することを確認しました。次に、トシル化学の手法を用いて、複合体-I をアルキンによって標識する実験を行い、複合体-I の鍵サブユニットである 49 kDa サブユニットが特異的に標識されることを突き止めました。さらに複数のタンパク質解析実験を通して、合成した機能性プローブによって、49 kDa サブユニットの N 末端側から 160 番目のアスパラギン酸残基が特異的に化学修飾されたことを明らかにしました。

ここで大切なことは、複合体-I という 1MDa にもなる巨大な酵素の、アスパラギン酸というたった 1 残基を見出したということです。実際、本会議では複合体-I 以外にも様々な酵素を対象に行われた研究成果が発表されましたが、そのほとんどは活性発現にとって重要なアミノ酸残基とその具体的な役割までを、はっきりと見せつけるものでした。研究成果としてはそれほど精度が当然のごとく要求されていると実感し、大変な刺激を受けました。また一方、本会議では報告者の研究成果を支持するような別の研究発表を耳にすることができたことが大きな収穫となりました。それは、ミュンヘン工科大学化学科で教授を務める Ville R. I. Kaila 氏が 7 月 14 日の午後に行った「呼吸鎖複合体-I におけるプロトン輸送」という発表においてのことです。この発表の中で Ville Kaila 教授は、複合体-I においてプロトン輸送と共役して果たされる「ユビキノンの還元」という重要な機能に関わる 3 つのアミノ酸残基を提示され

ました。ヒスチジン、チロシン、そして報告者の発表にあったものと同じアスパラギン酸です。これらのアミノ酸残基は、複合体-Iの立体構造において互いに近い位置に存在しています。トシル化学の手法では、複合体-Iのアミノ酸残基による求核置換反応が鍵となるのですが、ユビキノンがユビキノールへと還元される遷移状態において、ヒスチジン残基とチロシン残基はプロトン付加を受けた状態が含まれるとのことでした。つまり、求核力が低下しているわけです。一方で、アスパラギン酸残基はカルボキシ基が解離した状態を保っており、他の二つの残基よりプローブに対する求核力が高いことが予想されます。したがって、報告者の研究においてアスパラギン酸が特異的に化学修飾されたことは理にかなっているのだと納得し、嬉しくなりました。

さらに Ville Kaila 教授は、自身の発表以外においても積極的に質疑応答に参加されており、報告者にとって鮮烈な印象を残した一人となりました。まだ「青年」といった若さでありながら、毎回のように講演者に対して質問を投げかけていたのです。自分なりの視点を持って発表内容を追っているということです。報告者はまだ、英語で行われる発表の内容についていくのがやっと、というところでした。しかしいずれはあの議論の場で存在感を示したいと憧れるようになり、帰国しました。

最後になりますが、本会議に参加する機会を与えてくださった京都大学大学院農学研究科応用生命科学専攻・三芳秀人教授に心より感謝いたします。また、渡航に際して必要となる経費に対し、助成金の交付をしてくださった京都大学教育研究振興財団に深く感謝いたします。報告者は、今後も研究者として努力を重ねていきたいと思っています。