3SE56

高分解能構造解析によるチトクロム酸化酵素のプロトンポンプ機構

○月原 富武（阪大・蛋白研）

チトクロム酸化酵素はミトコンドリアで酸素を水にまで還元すると同時にプロトンをマトリックス側から膜間に汲み上げる。膜間に蓄積されたプロトンが ATP 合成の駆動力として使われる。チトクロム酸化酵素は 1951 年の発見 (1) 以来、呼吸によるエネルギー獲得における最も重要な酵素として多くの研究がなされてきた。本酵素は活性中心として、チトクロム c から電子を受け取る複核銅 CuA、ヘム a、ヘム a3 と銅イオン CuB が有る。ヘム a3 と CuB が酸素還元のための活性中心として働いている。ヘム a は CuA から電子を受け取りヘム a3 に送る。我々は X 線結晶構造解析に基づいて、酸素還元と同期したプロトン輸送の仕組みを提唱した (2~4)。酸素還元に伴って酵素内部にあるヘムの酸化還元に伴って生じる膜間側表面近傍にある Asp が構造を変化してプロトンを膜間に放出する。ヘム a の側鎖も酸化還元に伴って構造変化を起こし、プロトンをマトリックス側から吸い上げる。マトリックス側から膜間までは主として水素結合で繋がった経路に沿ってプロトンが輸送される。この経路の途中にはヘム a のフォルミル基があり、ヘムの酸化還元によって電荷分布を大きく変化させて、プロトン輸送を制御している。酸素還元の活性中心であるヘム a3 とプロトンポンプに重要な役割を担うヘム a との間で機能分担が行われている。慶応大学の島田らはほ乳類のチトクロム酸化酵素を使って部位指定変異体の機能解析を行うことに成功し、この説を実証した (5)。引用文献 (1) Warburg et al., *Physiol. Chem.* (1951) 288, 1-4. (2) Tsukihara et al., *Science* (1995) 269, 1017-1188. (3) Tsukihara et al., *Science* (1996) 272, 1136-1144. (4) Yoshikawa et al., *Science* (1998) 280, 1723-1729. (5) Tsukihara et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* (2003) 100, 15303-15309.

T. Tsukihara : Proton Pumping Mechanism of Cytochrome c Oxidase Based on High-Resolution X-ray Analyses

3SF52

ナノフォース走査型プローブ顕微鏡の開発と細胞生物学への応用

○芳賀 永（北大・院理・生物科学）

走査型プローブ顕微鏡 (SPM) は、真空や大気中のみならず、液中環境下において生体試料（細胞、生体高分子、DNA）の表面形状を固定処理することなく観察できる装置である。このため、培養液中における生きた生体標本の形態変化を直接観察することができ、生命活動の研究をする上で非常に有効な手段となる。さらに、SPM は探針を試料に直接接触させながら測定するため、弾性や粘性といった試料の力学的な性質も測定することができる。

我々の研究グループでは、これまでに、細胞内に働く局所的な力の空間分布を 0.1 ナニュートンレベルで計測することが可能なナノフォース走査型プローブ顕微鏡 (NF-SPM) や上皮細胞コロニー全体の観察が可能な広域走査型プローブ顕微鏡 (WR-SPM) などを開発し、細胞や組織内にどのような力が伝わり細胞運動や組織形成を制御しているのかを明らかにしてきた。本講演では、細胞運動に伴う張力緩和機構 [1] や細胞内張力ホメオスタシス [2] など SPM を用いた生体試料の観察結果について幾つか紹介し、細胞生物学への今後の展開について述べる。

References

- [1] M. Nagayama, *et. al.*, *Exp. Cell Res.*, **300**, 396-405 (2004).
- [2] T. Mizutani, *et. al.*, *Cell Motil. Cytoskeleton*, **52**, 242-248 (2004).

H. Haga : Instrumentation of Nano-Force Scanning Probe Microscopy and the Application to Cell Biology

3SF51

バイオとナノの融合—新しい研究分野の開拓—

○長田 義仁（北大）

本 21 世紀 COE プログラムは、バイオサイエンスとナノテクノロジーの研究領域において独創的、先端的な研究を展開している北大の 4 つの部局：大学院理学研究科生物科学専攻、薬学研究所 3 専攻（生体分子薬学専攻、創薬化学専攻、医療薬学専攻）、電子科学研究所、遺伝子病制御研究所が、研究・教育における垣根を取り払って力を結集し、新しい生命科学の研究拠点を形成するものです。「新生命科学拠点」では、(1) タンパク質、糖鎖、脂質の構造機能解析に焦点をあてた基盤生命科学研究と、その展開としての創薬・テラーメイド治療研究を含むポストゲノム科学研究、(2) レーザー光技術単一分子計測などの新解析技術やバイオ新素材の開発につながるナノテクノロジー研究の飛躍的発展を図ると共に、(3) バイオとナノテクを融合した新しい学際的な研究領域、ナノバイオサイエンスの創成とその発展を目指しています。これらの研究の実施には、産学官連携を視野に入れた北大北キャンパス構想の中心となる創成科学研究機構棟、次世代ポストゲノム研究棟、ナノテクノロジー研究棟を活用しています。このような総合大学の特色を生かした部局横断的な他分野を見ない本 COE プログラムは、我が国で強く発展が求められているライフサイエンスにおける国際水準の研究推進を可能にする一方、総合化によってのみ可能になるであろう将来の我が国の生命科学研究を担う卓越した若手研究者の育成を目指す教育体制を構築するものであります。

Y. Osada : Center of Excellence for Advanced Life Science on the Base of Bioscience and Nanotechnology

3SF53

膜脂質の非対称性と細胞極性形成

○田中 一馬、鎌田 このみ、山本 隆晴（北大・遺研研・分子間情報）

脂質二重層の間で脂質の組成が異なるいわゆる脂質の非対称性は広く真核細胞の細胞膜で観察される現象であるが、その役割にはまだ未解明な点が多いと考えられている。この脂質の非対称性では、phosphatidylethanolamine (PE) や phosphatidylserine (PS) などのいわゆるアミノリン脂質は細胞質側に、phosphatidylcholine や sphingolipids は細胞外側に多く存在する。膜脂質の非対称性は脂質分子を選択的に反対側の層へエネルギー依存的に転移させるトランスロケースによって形成されると考えられている。私達は、酵母細胞をモデル系に用いて、細胞の極性形成を制御する遺伝子として見出した Cdc50 が、P-type ATPase 型のリン脂質トランスロケースであると考えられている Drs2 の非触媒サブユニットであることを見出した。最近の私達や他のグループの解析から、Cdc50-Drs2 複合体はエンドソームやゴルジ体膜に局在してこれらの膜の PE や PS の細胞質側層での濃度上昇に働いていると考えられており、これがエンドサイトーシスにおける蛋白質や脂質のリサイクリング過程において必須であることが明らかになってきた。この Cdc50-Drs2 が形成する脂質非対称性の役割としてエンドソームから生じる小胞の形成過程が想定されているが、ここではリン脂質のみならずエルゴステロール（動物細胞のコレステロールに相当）も関与していることが示唆された。一方、Cdc50-Drs2 に類似しているが別のトランスロケースである Lem3-Dnf1/2 複合体は細胞膜に局在し、これが形成する脂質非対称性がおそらくは Cdc42 GTPase を介して細胞の極性成長の方向を制御していることも明らかになってきたので合わせて報告したい。

K. Tanaka, K. Fujimura-Kamada, T. Yamamoto : Changes of membrane lipid organization regulate endocytosis and cell polarization