

発表番号：3B055

発表日時：3月29日 13:15～14:15、発表場所：ポスター会場エリア B

出芽酵母ミトコンドリア VDAC はユビキノンと特異的に結合する

Mitochondrial voltage dependent anion channel of *Saccharomyces cerevisiae* specifically accommodates ubiquinone.

○奥田 絢香¹、村井 正俊¹、山本 武範²、篠原 康雄²、三芳 秀人¹ (¹京大農、²徳島大疾患プロテオゲノム研究センター)

○Ayaka OKUDA¹, Masatoshi MURAI¹, Takenori YAMAMOTO², Yasuo SHINOHARA², Hideto MIYOSHI¹ (¹Kyoto Univ., ²Tokushima Univ.)

【背景・目的】ユビキノンに代表されるキノン類は、バクテリアから高等生物に至るまで幅広く分布する生理活性分子であり、その主な役割は呼吸鎖電子伝達系における電子伝達担体としてはたらくことである。また、近年の研究では、電子伝達には直接関与しないものの、ユビキノンを“補因子”として持つことで機能する「ユビキノン結合性タンパク質」の存在が幾つか示唆されている。ミトコンドリア外膜に存在する電位依存性アニオンチャンネル (VDAC) は、そうしたユビキノン結合性タンパク質の候補の一つであり、いわゆる膜透過性亢進と呼ばれるシトクロム *c* の細胞質への漏出など、アポトーシスの鍵現象に深く関与することが知られている。ユビキノンが膜透過性亢進の制御に関与するという報告は知られていたが、両者の相互作用を明確に実証した例はこれまでにない。本研究では、出芽酵母ミトコンドリアを実験材料として、独自に合成したユビキノンプローブを用いた光親和性標識実験を切り口に、VDAC とユビキノンの関係を明らかにすることを目的とした。

【結果】ユビキノンのキノン環とイソプレレン側鎖末端に、アジド基とアルキンをそれぞれ導入したユビキノンプローブを合成した (UQ-1、図 1)。本化合物は光親和性標識実験後に、クリックケミストリー ([3+2]環化付加反応) を利用して任意のタグを導入し、様々な生化学解析に供することを意図して設計した。出芽酵母から単離したミトコンドリアを、UQ-1 によって光親和性標識し、クリックケミストリーによって各種タグ (図 1) を導入した。蛍光タグ (TAMRA) を導入したサンプルは、電気泳動後のゲルの蛍光観察を行なうことで、また、ビオチンタグを導入したサンプルは、アビジン沈降によるタンパク質の精製やウェスタンブロットを行なうことで、標識を受けたタンパク質の解析を進めた。その結果、ユビキノンが VDAC に対して特異的な結合親和性を示すことを初めて見出した。また、プロテアーゼ限定消化によって、UQ-1 の結合部位を C 末端付近の Phe221-Lys234 に限定することに成功した。

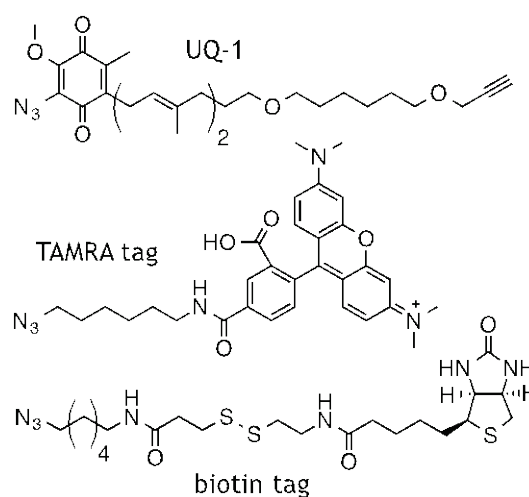


図 1. ユビキノンプローブ (UQ-1) とタグの構造

Ubiquinone, VDAC, Photoaffinity labeling

発表責任者：三芳秀人 (miyoshi@kais.kyoto-u.ac.jp)