

氏 名	坂 元 君 年
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学位記番号	農 博 第 1057 号
学位授与の日付	平 成 11 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	農 学 研 究 科 農 芸 化 学 専 攻
学位論文題目	Studies of Structure and Function of Synthetic Ubiquinones in Respiratory Enzymes

(呼吸鎖酵素における合成ユビキノンの構造と機能に関する研究)

(主査)

論文調査委員 教授 岩村 俣 教授 上野民夫 教授 林 力丸

論 文 内 容 の 要 旨

ユビキノンは呼吸鎖を構成する電子伝達酵素の間で電子伝達担体として機能する疎水性低分子化合物で、様々な呼吸鎖酵素における共通の基質である。呼吸鎖電子伝達酵素の強力な阻害剤のほとんど全ては、ユビキノン結合部位もしくはその近傍に作用することが知られているが、全ての呼吸鎖酵素を阻害する万能な阻害剤が存在しないという事実は、ユビキノン結合部位の立体構造は酵素によってかなり異なっていることを示唆している。これまでに各酵素に対する特異的阻害剤を用いたユビキノン結合部位に関する研究が盛んに行われてきたが、ユビキノン類縁体を用いた同様の研究例は極めて少ない。また、既存の研究例においては統一的な見解を得られるだけの構造系統的な化合物群に基づいたものではない。本研究は新規合成ユビキノン類縁体の電子伝達活性の変化を指標とし、ウシ心筋ミトコンドリア複合体 I および大腸菌チトクロム *bo* について、ユビキノン触媒部位の構造および機能特性についての解明を行ったものである。その結果は以下のように要約される。

1. ウシ心筋ミトコンドリア複合体 I において、キノン環上の 2 位または 3 位のメトキシ基を選択的によりかさ高い他のアルコキシ基へ改変した一連のユビキノン類縁体を合成し、電子受容活性について検討した。2 位あるいは 3 位にブトキシ基のようなかさ高い置換基を有するユビキノン類縁体においても十分に活性を保持したことより、複合体 I のキノン還元部位は他の電子伝達酵素では見られないほど大きな空間を取っていることを明らかにした。また、ユビキノン類縁体のプロトンポンプ活性と電子受容活性を比較したところ、両活性は類縁体間で良好に相関することが分かり、複合体 I のプロトンポンプ活性 (H^+/e) が基質の構造に依存しないことを明らかにした。さらに、複合体 I との相同性が高くより簡単な構造をしている *Paracoccus denitrificans* NDH-1 を用いて基質認識について比較検討したところ、NDH-1 ではプロポキシ基の導入、またはデシル側鎖により活性を失い、複合体 I に比べ NDH-1 の方がより厳密にユビキノンの構造を認識していることを明らかにした。

2. 天然ユビキノンのイソプレノイド側鎖の一部であるグラニル基を側鎖として有するユビキノーン-2 (Q_2) に関して、二つのメチル分岐あるいは二つの不飽和結合のうちいずれか一つだけを欠いた一連の側鎖改変 Q_2 類縁体を合成し、イソプレノイド側鎖の機能について検討した。複合体 I ではキノン環に近いイソプレノ単位上のメチル分岐と不飽和結合の存在が酵素との親和性を高める特異的な構造因子であることを明らかにした。また、キノン環とこれらの構造因子との距離も酵素によって厳密に認識されていることを明らかにした。

3. 大腸菌チトクロム *bo* において、一連のアルコキシユビキノン類縁体の還元型を用いてキノール環の 2 位および 3 位の置換基効果について検討した。側鎖構造がグラニル基あるいはデシル基のいずれの場合においても、2 位にかさ高いアルコキシ基を導入すると 3 位に導入した化合物と比較し顕著な活性の低下が見られたことより、3 位メトキシ基と比べ 2 位メトキシ基はキノール酸化部位によってより厳密に認識されていることを明らかにした。さらに、このようなキノール環上の

置換基効果は側鎖構造の影響を受けないことを明らかにした。

4. 大腸菌チトクロム *bo* において、上記の一連の側鎖改変 Q_n 類縁体を用いて電子供与活性に対する側鎖構造の影響について検討した。メチル分岐の有無は活性に変化を与えず、二つの不飽和結合のうちいずれか一つでも存在すると酵素との親和性が顕著に増大することを明らかにした。また、この不飽和結合とキノール環の距離は酵素によって厳密には認識されていないことを明らかにした。

論文審査の結果の要旨

ユビキノンは呼吸鎖を構成する電子伝達酵素の間で電子伝達担体として機能する疎水性低分子化合物で、様々な呼吸鎖酵素の共通の基質である。これまでに特異的阻害剤を用いたユビキノンの結合部位に関する研究が盛んに行われてきたが、ユビキノンの類縁体を用いた研究例は極めて少ない。また既存の研究例においても統一的な見解を得られるだけの構造系統的な化合物群に基づいたものではない。本研究は新規合成ユビキノンの類縁体の電子伝達活性の変化を指標とし、ウシ心筋ミトコンドリア複合体 I および大腸菌チトクロム *bo* についてユビキノンの触媒部位の構造および機能特性についての解明を行ったものであり、評価すべき点は次の通りである。

1. ウシ心筋ミトコンドリア複合体 I において、2位あるいは3位にかさ高い置換基を有するユビキノンの類縁体を用いて電子受容活性について検討し、複合体 I のキノン還元部位はプトキシ基のようなかさ高い置換基を許容できるだけの大きな空間を取っていることを明らかにした。また、複合体 I とそのモデル酵素であると考えられている *Paracoccus denitrificans* NDH-1 との基質認識について比較した結果、NDH-1の方がより厳密にユビキノンの構造を認識していることを明らかにした。

2. ユビキノンの類縁体のプロトンポンプ活性と電子受容活性を比較し、複合体 I のプロトンポンプ活性 (H^+/e) は基質の構造に依存しないことを明らかにした。

3. 一連の側鎖改変ユビキノンの類縁体を合成し、イソプレノイド側鎖の機能について検討し、複合体 I ではキノン環に近いイソプレノイド単位上のメチル分岐と不飽和結合の存在が酵素との親和性を高める特異的な構造因子であることを明らかにした。また、キノン環とこれらの構造因子との距離も酵素によって厳密に認識されていることを明らかにした。

4. 大腸菌チトクロム *bo* において、一連のアルコキシユビキノンの類縁体の還元型を用いてキノール環の2位あるいは3位の置換基効果について検討し、2位メトキシ基は3位メトキシ基よりも厳密に認識されていること、またキノール環上の置換基効果が側鎖構造の影響を受けないことを明らかにした。

5. 大腸菌チトクロム *bo* において、グラニル側鎖の二つの不飽和結合のうちいずれか一つでも存在すると酵素との親和性が顕著に増大することを明らかにした。また、この不飽和結合とキノール環との距離は、酵素によって厳密には認識されていないことを明らかにした。

以上のように本論文は構造系統的に合成したユビキノンの類縁体の電子伝達活性の変化を指標として、呼吸鎖酵素のキノン触媒部位に関する新知見を得たものであり、生体エネルギー機構に関する生物機能制御化学、生物調節化学ならびに生体高分子化学研究の進展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成11年2月12日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。