

熱源タンパク質の集積化による 光熱エネルギー変換システムの構築

大友章裕*

Development of a Light-to-heat Energy Conversion System Using Oligomerization of Molecular Heater Proteins

Akihiro OTOMO*

This study aimed to demonstrate a biomolecular function-modulation system driven by photothermal conversion of a heme protein. As a model system, myoglobin was used as a molecular heater protein, and ATP hydrolysis by thermophilic ATP synthase was employed as the functional readout. Enzyme activity increased by approximately 1.7-fold under laser irradiation, supporting the proof of concept. In addition, to enable future oligomerization for more efficient photothermal conversion, a thermostable myoglobin mutant was selected as a candidate molecular heater protein. The purified mutant showed improved thermal stability, indicating that it is a suitable target for subsequent oligomerization studies.

1. 背景と目的

生命現象の理解に向けて、細胞内の特定部位で生体機能を操作する技術の創出が求められている。その手法の一つとして、光吸収で生じたエネルギーを熱として散逸させ、その温度上昇を利用する光熱変換アプローチが注目されている。光を熱エネルギーに変換する材料として、これまで金属ナノ粒子やナノ半導体などの無機材料が利用されてきた[1, 2]。これらは高い光熱変換効率を示す一方、生体適合性の低さや生体内での固定化の難しさから、生体分子系への適用には課題が残る。こうした背景のもと、生体由来分子を光熱変換素子として利用する試みがなされている。特に、鉄ポリフィリン錯体であるヘムはミオグロビンやヘモグロビンなどのヘムタンパク質の補欠分子族であり、可視光を吸収して電子励起されると高速な無輻射緩和により励起光のエネルギーを高効率で熱に変換する。近年、溶液中のヘムタンパク質が光照射によって溶媒の温度上昇を引き起こすことが報告され、生体分子を基盤とした光熱変換系が実現可能となってきた[3]。そこで本研究では、ヘムタンパク質の光熱変換能を利用した生体分子機能の制御手法を構築し、さらに熱源タンパク質の集積化による局所加熱効率の向上を目指した。

2. 実験方法

光熱変換による生体分子機能制御の実証に向けて、温度上昇に伴って活性が増加する好熱菌由来 ATP 合成酵素 (TF₀F₁) の ATP 加水分解反応を指標として用いた。TF₀F₁ 活性は、ATP 加水分解反応を NADH 酸化反応と共役させ (図 1)、反応開始後 10 分間の吸光度変化から各条件における活性を算出した。ヘムタンパク質として市販の精製ミオグロビン (Mb) を用い、100 μM Mb 存在下で波長 405 nm のレーザー光の照射の有無により活性が増加するかを検証した。

熱源タンパク質の集積化に向けては、集積化の前提となるヘムタンパク質の調製および安定性向上を目的として、新たに報告された耐熱性を示す Mb 変異体[4]に着目し、当該変異体の発現プラスミドの構築、大腸菌を用いた発現およびカラム精製を行った。

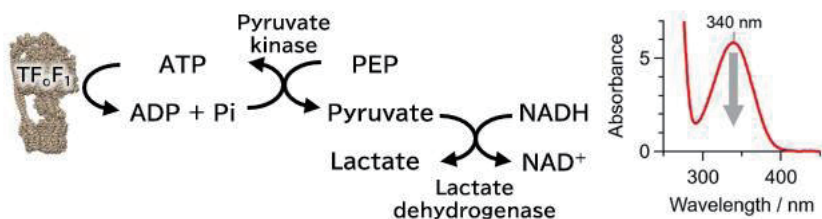


図 1 NADH酸化と共役したTF₀F₁活性測定系の反応スキーム。

3. 結果と考察

Mbの光熱変換による酵素活性の増加を実証するにあたり、TF₀F₁非存在下でも光照射に伴う吸収スペクトル変化が認められた。そこで各条件においてこれらの変化をバックグラウンドとして差し引くことで、TF₀F₁由来のスペクトル変化を抽出し、活性を解析した。図2に得られたTF₀F₁のATP加水分解活性を示す。10分間の光照射によって活性は $33.6 \pm 7.9 \text{ s}^{-1}$ から $58.0 \pm 16.2 \text{ s}^{-1}$ へと上昇し、Mbへの光照射によるTF₀F₁活性増加を示すことができた。

今回、約1.7倍の活性増加が観測された。TF₀F₁活性の温度依存性を示すQ10値[5]に基づくと、この変化は約5°Cの温度上昇に対応する。一方で、本測定で得られた値は、レーザー照射により形成される不均一な温度場を含む系全体の平均応答である。したがって、光照射によるミオグロビンの温度上昇能および酵素活性の増加を定量的に理解するためには、光照射に伴う温度勾配を空間的に評価する必要性が明らかになった。

集積化に用いる熱源タンパク質の選定に向けては、最近報告された耐熱性Mb変異体を対象とした[4]。構築した発現プラスミドを用いて耐熱性Mbを大腸菌で発現させ、カラムクロマトグラフィーにより変異体Mbを精製した。得られた試料の熱安定性を評価するため、複数の温度条件で処理した前後の吸収スペクトルを測定したところ、変異体は野生型Mbと比較して高い安定性を示した(図3)。この結果は、当該変異体が集積化および光熱変換のための熱源タンパク質として有望であることを示している。一方で、発現・精製過程では大部分が封入体として得られ、可溶性画分として精製できる量は限られていた。このため、現時点では集積化の検討に入る前段階として、発現・精製条件の最適化を進めている。

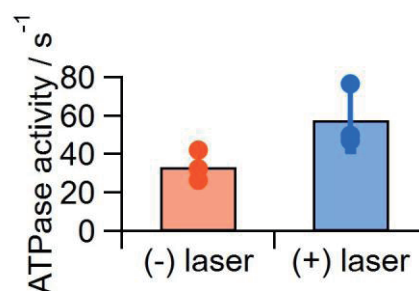


図2 光照射有無によるATP加水分解活性.

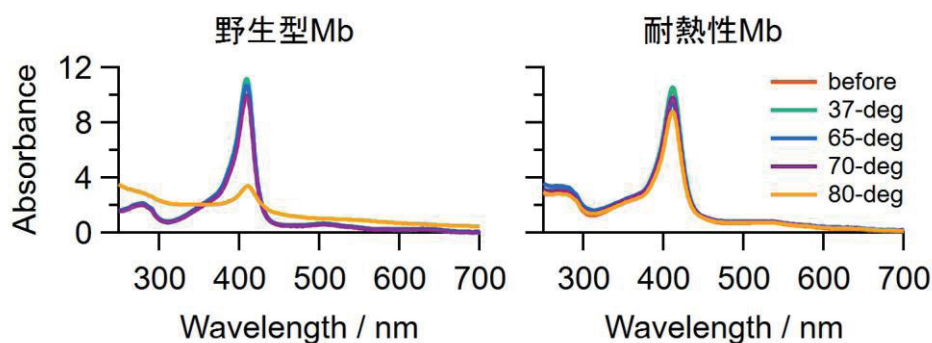


図3 野生型および耐熱性Mbの熱安定性評価.

4. 今後の展望

本研究によって、ヘムタンパク質を光熱変換材料とした光照射に伴う酵素活性の上昇を実証することができた。今後は、今回得られた概念実証の結果を基盤として、このシステムの定量的な計測・解析を進める。具体的には、光照射条件下での活性上昇を温度変化および空間的な温度分布と対応づけて評価することで、光熱変換による活性制御の設計指針を確立する。さらに、当初目的であった熱源タンパク質の集積化によって局所加熱効率を高めることで、より高効率なエネルギー変換システムを構築する。これらの系と脂質二重膜から成るリボソーム小胞とを組み合わせ、細胞内局所操作を志向した技術基盤への展開を目指す。

REFERENCES

- 1) S. Duan, *et al.*, *RSC Adv.*, **13** (2023) 14443-14460.
- 2) X. Cui, *et al.*, *Chem. Rev.*, **123** (2023) 6891-6952.
- 3) T. Watase, *et al.*, *J. Phys. Chem. C*, **129** (2025) 148-155.
- 4) C. Küng, *et al.*, *Protein Sci.*, **34** (2025) e70112.
- 5) N. Soga, *et al.*, *FEBS J.*, **278** (2011) 2647-2654.