

トピックス

F₁-ATPase は回転軸がなくても回転する

古池 晶*, Mohammad Delawar HOSSAIN, 木下一彦

早稲田大学理工学術院, *現 大阪医科大学物理学教室

回転軸の大部分を削っても、F₁-ATPase (F₁) がなおも回転できるという結果は、いままでの回転機構に対する認識を一変させた。その解釈には新しい考え方が必要になる。本稿では、この結果を整理し、軸なし F₁ が回転できるとどうして面白いのか、そしてそこからどんな展望があるのかを考えてみたい。

1. | F₁ は ATP 駆動の回転分子モーター

ATP 合成酵素 (F₀F₁) は、膜に埋もれた F₀ と、膜外に突き出た F₁ からなり立つ巨大な膜タンパク質複合体である。膜の内外に十分な水素イオン濃度勾配があると (F₁ 側が低い)、F₁ の ATP 触媒部位で ADP と無機リン酸 (Pi) から ATP が合成される。濃度勾配が足りないと、逆に F₁ での ATP 加水分解によって、水素イオンが運び出される。つまり、タンパク質の動き (力学的エネルギー) を介して、電気化学ポテンシャルと化学結合エネルギーを可逆的に変換する分子機械である。

1980 年代 (構造の解かれる前!), Boyer や大沢らは、この 2 つのポテンシャルの変換には、その介在として回転運動への変換機構が必要だろうと予想した。すなわち、F₀ と F₁ が共通の回転子を持ち、水素イオンの通過によって回転する F₀ が、F₁ を強制的に (ATP 加水分解方向に対し) 逆回転させることで、ATP 合成がなされるというものである。この大胆な仮説は、1994 年に解かれた F₁ の結晶構造¹⁾ によって真実味をおび、その 3 年後、野地・安田らの 1 分子観察によって明快に証明された²⁾。構造上 (図 1), いかにも回転しそうな γ サブユニットに蛍光標識したアクチンフィラメントを付け、その回転するようすを光学顕微鏡で観察することに成功したのである。そのみならず、F₁ が 1 個の ATP の加水分解で 120° 駆動されるステップモーターであること、回転力は回転角度によらず一定であることなど、従来の手法では得難い情報を明らかにした。

では ATP 加水分解によって、どのように回転が駆動されるのだろうか。Oster らは、 β の ATP 触媒部位における化学反応、すなわち ATP の結合、加水分解、分解産物 (ADP, Pi) のリリースが、3 つの β で順次、共同的に行われ、その化学状態に伴う β の構造変化が回転の駆動力となると考えた。つまり、 γ と $\alpha_3\beta_3$ リング下部分との接触領域が、滑らかに回転可能な軸受け (支点) に相当し、 β が構造変化すると、その β 上部が、剛体棒の γ を押し引きする作用点として働くというわけである。このモデルは、 γ の角度が決まれば、3 つの β の化学状態が一義的に決まる (その逆も含む) という原理に基づくため、逆反応の ATP 合成を考えるのに都合がよかった。事実、2004 年に、伊藤らは磁気ビーズを付けた γ を、磁石で強制的に逆回転させることで力学的な ATP の合成に成功し³⁾、また足立らは、回転と ATP や ADP の結合数の同時観察によって、 β の化学状態と γ の角度との対応付けをほぼすべて決定した⁴⁾。

2. | 軸なし F₁ も正しい方向に回転する

筆者らは、回転力の発生に回転軸、つまり γ の $\alpha_3\beta_3$ リングに突き刺さった部分 (N 末と C 末に相当し、コイルドコイルを形成している) の、どの領域が不可欠なのかを調べるため、N 末と C 末からアミノ酸を遺伝子操作で段階的に削った変異体を作成し (図 1), 1 分子観察によってその回転のようすを調べた⁵⁾。比較的大きな 2 連結ビーズ (直径 290 nm) や金粒子 (40 nm) を γ に付けて (図 2 の黒円部分は結合する場所)、高速度カメラで撮影したところ、以下のような結果を得た。1) $\alpha_3\beta_3$ リング下部との接触領域の削除に伴って回転速度は減少し、回転力も半分程度にまで減少した。2) $\alpha_3\beta_3$ リングとの接触領域をもたない中央部分まで削っても、回転速度はほとんど変わらなかった。3) さらに、 $\alpha_3\beta_3$ リング上部との接触領域を半分程度にまで削除すると、回転速度は再び減少し、

F₁-ATPase can Rotate in the Correct Direction, without its Rotary Shaft

Shou FURUIKE*, Mohammad Delawar HOSSAIN and Kazuhiko KINOSITA, Jr.

Department of Physics, Faculty of Science and Engineering, Waseda University

*Present Address: Department of Physics, Osaka Medical College

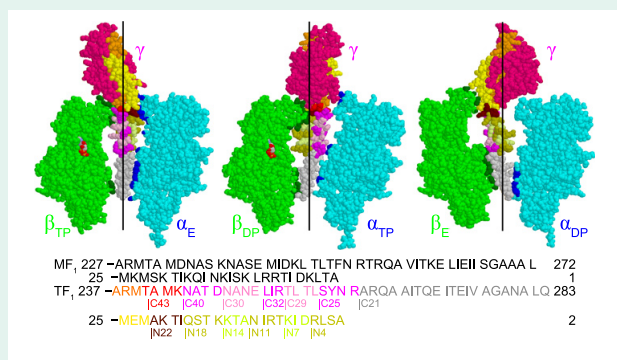


図 1 上段、牛ミトコンドリア F₁-ATPase (MF₁) の結晶構造⁹⁾の断面図。α、β上の濃い部分は、γとの接触領域を示す。下段、MF₁と好熱菌 F₁ (TF₁) の N 末、C 末のアミノ酸配列。削除したアミノ酸の数を X として、CX や NX で示した。たとえば、C21 は C 末から 21 個のアミノ酸を削除した変異体。構造と配列の色は、対応している。(電子ジャーナルではカラー)

ATP 加水分解速度も α₃β₃ リングだけの場合と同程度まで減少した。また、不規則な運動（逆ステップなど）も観察されるようになったが、最終的に回転軸の大部分を削った変異体（図 2）でも正しい方向へ 100 回転以上も回転した。

この α₃β₃ リングとわずかな接触領域しかもたない γ が回転できるということは、これまで回転に重要と考えられていた γ と α₃β₃ リングとの相互作用のほとんどが、回転に必須ではないことを意味している。それどころか、そもそも回転に必要な領域などなく、接触可能な、どの領域にでも回転する能力が備わっている可能性さえできた。

また実験結果は、γ とリング上部との接触領域が、（回転運動に本質的な機能である）回転力の発生と回転方向を制御し、リング下部との接触領域が、回転力発生の補助と回転速度を制御していることを示唆する。回転の 1 方向性（質）とその速度（量）が別々の領域で制御されていることは、γ の角度が β の化学状態をどのように決定するのか、また F₁ がその機能を獲得する過程（進化）を考える上でも興味深い。

3. 軸なし F₁ はなぜ回転できる？

軸なし F₁ が回転するためには、残された γ と α₃β₃ リングとの相互作用において少なくとも、回転の 1 方向性、回転力の発生、そして（激しい熱運動に抗して）γ の保持が実現されているはずである。その仕組みは、単頭のリニアモーター KIF1A で示唆されている diffusion and catch のようなものかもしれない⁶⁾、DNA を回転させながら引き込む helicase のようなもの

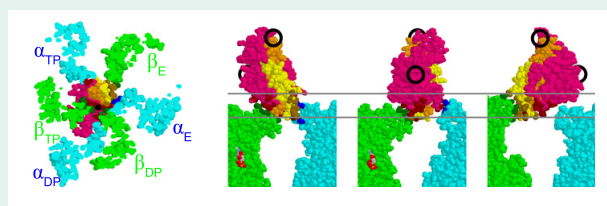


図 2 最も短い回転子をもつ変異体の構造予想図（アミノ酸配列で、N22 かつ C43 に対応）。左図は、右図の 2 直線で挟まれた部分のみを下側から見た図。接触領域はわずかな領域に限定されている。(電子ジャーナルではカラー)

のかもしれない⁷⁾。現時点では、まだまだ不明であるが、F₁ を含めたこれら ATP 駆動型モーターが共通の動作原理で働いていれば面白い。軸なし F₁ の回転が、その探求へのきっかけとなればと思う。

謝 辞

本稿で紹介した研究は、共同研究者の牧泰史、足立健吾、鈴木俊治、伊藤博康、小堀綾子、吉田賢右、塩育、ならびに早稲田大学木下研究室の方々の協力によってなされました（敬称略）。深く感謝いたします。

文 献

- 1) Abrahams, J. P. *et al.* (1994) *Nature* **370**, 621.
- 2) Noji, H. *et al.* (1997) *Nature* **386**, 299.
- 3) Itoh, H. *et al.* (2004) *Nature* **427**, 465.
- 4) Adachi, K. *et al.* (2007) *Cell* **130**, 309.
- 5) Furuie, S. *et al.* (2008) *Science* **319**, 955.
- 6) Okada, Y. *et al.* (2003) *Nature* **424**, 574.
- 7) Patel, S. S., Picha, K. M. (2000) *Annu. Rev. Biochem.* **69**, 651.
- 8) Gibbons, C. *et al.* (2000) *Nat. Struct. Biol.* **7**, 1055.



古池 晶, Mohammad Delawar HOSSAIN

古池 晶 (ふるいけ しょう)
大阪医科大学物理学教室助教
研究内容: F₁-ATPase の回転機構
連絡先: 〒 569-8686 大阪府高槻市大学町 2-7
E-mail: shou@art.osaka-med.ac.jp
URL: <http://www.osaka-med.ac.jp/deps/phy/Dept-phys.htm>

Mohammad Delawar HOSSAIN (モハammad デラワール ホセイン)
早稲田大学理工学術院学振外国人特別研究員
研究内容: F₁-ATPase の回転機構
連絡先: 〒 171-0033 東京都豊島区高田 1-17-22 中橋商事ビル新棟 2 階 早稲田大学木下研究室
E-mail: h.mohammad@kurenai.waseda.jp
木下一彦 (きのした かずひこ)
早稲田大学理工学術院教授
研究内容: 1 分子生理学
連絡先: 同上
E-mail: kazuhiko@waseda.jp
URL: <http://www.k2.phys.waseda.ac.jp/>