

【基盤研究(S)】

生物系(生物学)



研究課題名 ATP合成酵素の構造と制御と生理

京都産業大学・総合生命科学部・教授
よしだ まさすけ
吉田 賢右

研究分野：生物学・生物科学・機能生物化学

キーワード：生体エネルギー変換・酵素の調節

【研究の背景・目的】

ただ一つの例外もなく、すべての生き物のすべての細胞の中において、ATPはエネルギー通貨として使われている。ADPとリン酸からATPを再び合成するのはATP合成酵素(F_0F_1)で、ミトコンドリア、葉緑体、細菌の膜に存在している。この酵素は、 H^+ の流れで回転する F_0 モーターと、ATP加水分解で回転する F_1 モーターが、共通の回転シャフトで連結し、 H^+ の流れと $ATP \rightleftharpoons ADP + \text{リン酸}$ のエネルギーを交換する、他に類例のない機能を持つ酵素である。細胞のATPの消費需要と合成能力とは刻一刻変化している。では、それに応じてATP合成酵素はどのように制御されているか。これがわかっていない。このプロジェクトでは、ヒトを含む動物ミトコンドリアのATP合成酵素を中心に、その制御の分子機構、細胞生理、欠陥個体の病態、を解明する。また、ATP合成酵素の全体構造の結晶解析を行う。

【研究の方法】

(1) ATP合成酵素の制御の分子機構

一般に、基本機構は生物種に共通だが、制御は個別的である。しかし私たちの最近の研究で、ATP合成酵素には4つの活性制御のオプションがあり、生物は種によってそれを組み合わせていることがわかってきた。ADP阻害(全生物)、 ϵ -サブユニット阻害(細菌)、S-S形成による阻害(植物)、タンパク質 IF_1 による阻害(ミトコンドリア)、である。私たちはごく最近、2つの強力な実験系を開発した。その1つが、ヒト F_1 の大腸菌発現の成功とその回転の1分子観察系である。新しい実験系を武器に、それぞれの阻害の分子機構とその統合を明らかにする。

(2) 制御欠陥のある細胞と個体の生理

もう1つの強力な実験系は、今までの100倍の感度と多数の試料検定が可能な培養細胞ミトコンドリアATP合成活性測定法である。ノックダウンをおこなえば、ヒトATP合成酵素の遺伝生化学が始めて広範に実施できる。阻害の失調によって細胞、組織、個体に何が起きるか、明らかにする。予備実験によると、ATP合成酵素の阻害は、その活性の阻害にとどまらず、ATP合成酵素のアセンブリーやミトコンドリアの形態まで影響をもたらすらしい。逆に今までATP合成酵素と無縁と思われた遺伝子産物がATP合成酵素の活性に影響を持っている可能性も出てきている。ATP合成酵素の阻害因子(阻害化合物)の網羅的な探索をおこなう。また、 IF_1 のノックアウトマウスを作製

しつつあるので、その病態を解明する。

(3) ATP合成酵素の原子構造の解明

ATP合成酵素の調節の詳細を知るには、その原子構造の知識が必要である。しかし、ATP合成酵素は、私たちを含む世界の多数のグループの構造解明の挑戦を、この15年間ことごとくしりぞけてきた。巨大なモーター膜たんぱく質であり、固定子と回転子のゆるやかな「すべる」結合、停止位置の違いによる回転異性の存在、などが問題である。すべらないように固定したサブユニット融合ATP合成酵素、またモノクローン抗体を結合した酵素の結晶化を行う。

【期待される成果と意義】

ヒトが飢餓に陥れば、ミトコンドリアの呼吸に燃料が提供されず、 H^+ の勾配は形成できず、ミトコンドリアのATP合成は停止する。それだけではない。ATP合成酵素が逆反応を開始して、ATPの加水分解を始めるはずである。しかし、実際にはこの事態は生じない。その分子機構が解明できれば、ミトコンドリアのエネルギー代謝の根幹が理解できる。ATP合成酵素を不活性化してしまう変異をもつ個体はそもそも存在しないだろうが、調節に欠陥を持つ個体は細胞のエネルギー代謝に影響が出て、独特の症状を呈すると予想される。ATP合成酵素の全体構造の解明は、その触媒機構と調節機構の理解に役立つ。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

Saita E, et al. Activation and stiffness of the inhibited states of F_1 -ATPase probed by single-molecule manipulation. *J Biol Chem.* 2010; 285:11411-7

Masaike T, et al. Cooperative three-step motions in catalytic subunits of F_1 -ATPase correlate with 80° and 40° substep rotations. *Nat Struct Mol Biol.* 2008; 15: 1326-33.

【研究期間と研究経費】

平成23年度－25年度
81,700千円

【ホームページ等】

<http://www.cc.kyoto-su.ac.jp/~fmotojim/index-j.html>