

V 型 ATPase の回転メカニズムの解明: 変異体 A_1B_1 の構造解析

The rotary mechanism of V-ATPase

水谷健二^{1,*}, 佐々木輝¹, 村田武士¹

¹千葉大学大学院理学研究科, 〒263-8522 千葉県千葉市稲毛区弥生町 1-33

Kenji Mizutani^{1,*}, Hikaru Sasaki¹, Takeshi Murata¹

¹Graduate School of Science, Chiba University, 1-33 Yayoi-cho, Inage-ku, Chiba, 263-8522, Japan

1 はじめに

V 型 ATPase は ATP の加水分解エネルギーを利用して膜を介したイオンの輸送を行う巨大な超分子複合体である。ATP の加水分解は V_1 部分に 3 カ所ある活性部位で順番に起こり、その反応の進行に従って V_1 の中心に位置するサブユニットが回転する仕組みになっている。

V 型 ATPase は上記のような機能メカニズムのみならず、複合体がどのように形成されるのかについても不明な点が多い。我々はこれまでに、V 型 ATPase を構成する各サブユニットや $V_1 \cdot A_3B_3 \cdot$ ローターリング・DF 回転軸などの部分複合体の構造解析を進めてきた。

腸球菌 V 型 ATPase の A_3B_3 複合体には A_1B_1 複合体が 3 つ含まれる。そのうち 1 つだけの A_1B_1 を取り出した状態での構造解析を試みたが、野生型の複合体では結晶化中に A_3B_3 に再構成されてしまうため、 A_1B_1 単独での構造はこれまで明らかになっていない。

本研究では腸球菌 V-ATPase の A_1B_1 複合体の構造解析を行い、得られた構造から機能発現や複合体形成のメカニズムについて議論することを目指している。

2 実験

変異体 A_1B_1 の結晶化用サンプルは大腸菌無細胞合成系を用いて発現した。X 線回折実験は波長 1.1Å で行った。得られた回折データは HKL2000 または XDS で指数付け・積分・スケール処理した。

3 結果および考察

得られた結晶(図 1)は空間群 $P2_12_12_1$ に属していた。この結晶について BL-1A において回折データセットを取得した。

4 まとめ

変異体 A_1B_1 の発現精製を行い、新たな条件で得られた結晶を用いて回折データセットの収集を行った。現在データ解析中である。

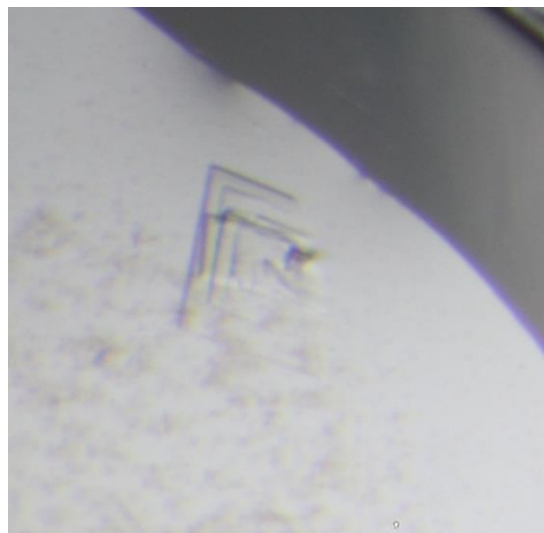


図 1 : 変異体 A_1B_1 の結晶

謝辞

X 線回折実験を行うにあたり、Photon Factory のビームラインスタッフに大変お世話になりました。心より感謝申し上げます。

* k.mizutani@chiba-u.jp