

V 型 ATPase の回転メカニズムの解明: ADP 結合型 V_1 -ATPase の構造解析

The rotary mechanism of V-ATPase

鈴木花野^{1,*}, 水谷健二¹, 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

Kano Suzuki^{1,*}, Kenji Mizutani¹, 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 DF 複合体の中心軸が回転する仕組みになっている。しかしこれらの詳細なメカニズムは明らかになっていない。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 複合体などの部分複合体の構造解析を進め, それらの構造から回転メカニズムを提案してきた。

本研究では腸球菌 V-ATPase の ADP 結合型 V_1 -ATPase の構造解析を行い, 得られた構造から更なる回転メカニズムの解明について議論することを目指した。

2 実験

V_1 -ATPase 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 1.1 Å で行った。得られた回折データは 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 $P2_12_12_1$ に属しており, 低濃度の ADP 条件下の結晶の格子定数は $a=127.4$ Å, $b=129.6$ Å, $c=237.2$ Å, $\alpha=\beta=\gamma=90^\circ$ で分解能 3.3 Å, 高濃度の ADP 条件下の結晶の格子定数は $a=121.7$ Å, $b=126.5$ Å, $c=225.3$ Å, $\alpha=\beta=\gamma=90^\circ$ で分解能 3.0 Å の回折データセットを取得し, 構造決定を行った(図 2)。

4 まとめ

低濃度の ADP 条件下では V_1 に 2 分子の ADP が, 高濃度の ADP 条件下では V_1 に 3 分子の ADP が結合していた。これらの構造は以前得られたヌクレオチド非結合型 V_1 -ATPase の全体構造と各々異なっており, これらは ATP 加水分解の反応中間体構造ではないかと示唆された。

これらの構造は現在論文投稿中である。

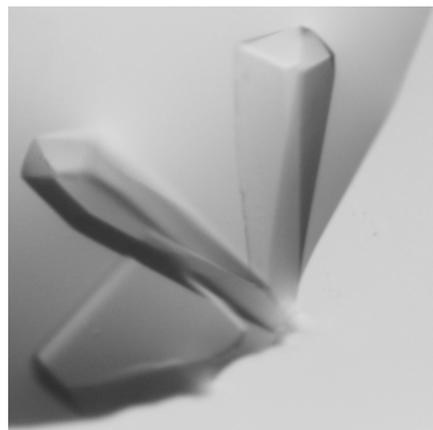


図 1. ADP 結合型 V_1 -ATPase の結晶

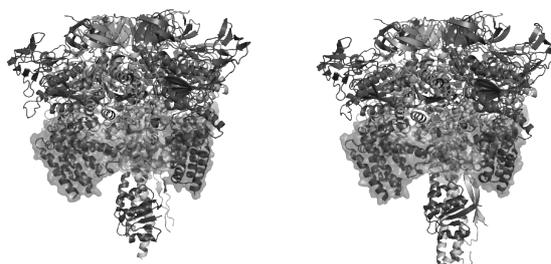


図 2 : ADP 結合型 V_1 -ATPase
(左 : 低濃度 ADP 条件下, 右 : 高濃度 ADP 条件下)

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。

* kano_s_1127@chiba-u.jp