

V₁-ATPase の結晶構造解析

○沼本修孝*, 長谷川裕, 竹田一旗, 三木邦夫
京大院理

V 型 ATPase (V-ATPase) は、細胞内の液胞やリソソームなどの様々な細胞小器官の膜上に存在し、プロトンポンプとして働いて小胞の酸性化などを担っている。一方で古細菌や一部の真性細菌の原形質膜上では、逆反応の ATP 合成を行っているものもあるなど、V-ATPase は生体内で多様な役割を担っている。V-ATPase は、F-ATPase と進化的に近縁なプロトン輸送型 ATP 合成/加水分解酵素であり、回転触媒機構により ATP の化学エネルギーと、膜を介したプロトン濃度勾配による電気化学的エネルギーの変換を行っている。この酵素の膜表在性ドメインは V₁-ATPase と呼ばれ、ATP の合成/加水分解を担っており、F₁-ATPase と同様に回転することが観察されているが、回転の詳細な様子は大きく異なっており、回転時のステップや発生トルクが異なっていることが報告されている。

われわれは高度好熱菌由来 V₁-ATPase の結晶構造を、4.5 Å 分解能で初めて決定した^[1]。位相の決定に際しては、酵母由来 F₁-ATPase をサーチモデルとした分子置換法と、重原子同型置換法を組み合わせることで、中程度の分解能ながら二次構造が十分に解釈できる電子密度を得た。

この V₁-ATPase は A, B, D, F サブユニットから構成され、組成は A₃B₃DF (386 kDa) である。得られた構造モデルから、回転軸を形成する D サブユニットが、対応する F₁-ATPase γ サブユニットと比較して、より直線的なコンフォメーションであることが明らかとなった。これは、トルクの差異を生み出すひとつの要因となり得ると考えられる。また、ヌクレオチドの結合に伴って、触媒部位をもつ A サブユニットの C 末端ドメインには大きなコンフォメーション変化はみられなかった。これは、F₁-ATPase で触媒活性をもつ β サブユニットの C 末端ドメインが大きくコンフォメーションを変化させるのとは対照的であり、V₁-ATPase における回転機構の大きな特徴と考えられる。一方、A サブユニットと B サブユニットとの境界面は、回転に伴い大きく接触面積を変化させており、このサブユニット間の四次構造変化が V₁-ATPase の回転を駆動していることが示唆された。

*現所属: 京都大学原子炉実験所

[1] Numoto N., Hasegawa Y., Takeda K., Miki K., *EMBO Rep.*, 10, 1228-1234, 2009