

平成21年3月31日現在

研究種目：基盤研究 (S)

研究期間：2006-2010

課題番号：18107004

研究課題名 (和文) ATP合成酵素 (F_0F_1) の構造、回転、制御研究課題名 (英文) Structure, rotation and regulation of ATP synthase (F_0F_1)

研究代表者 吉田 賢右 (Yoshida Masasuke)

東京工業大学・資源化学研究所・教授

研究者番号 90049073

研究分野：生化学

科研費の分科・細目：生物科学・機能生物化学

キーワード：ATP合成酵素、回転モーター、 F_0F_1 、ATP

1. 研究計画の概要

ATP合成酵素 (F_0F_1) は、 H^+ の流れで駆動する F_0 モーターと、ATPで駆動する F_1 モーターが、共通の回転シャフト ($c_{10}-\gamma\varepsilon$) を持つことによって、 H^+ の流れでATPを合成する。この基盤研究 (S) では、 F_0F_1 および F_0 モーターの原子構造の解明、回転の分子的理解、 F_0F_1 によるATPの合成と分解の制御、を追究する。

2. 研究の進捗状況

結晶構造解析のサンプルとしては、回転子の向きを完全にそろえた ATP合成酵素を調製する必要があるため、回転子の c_{10} -リング、固定子の F_0a 、回転子の ε サブユニットと γ サブユニットをすべて1本のポリペプチドとして融合した ($c_{10}-a-\varepsilon-\gamma$) F_0F_1 を作製した。その他にもさまざまな融合 F_0F_1 を作製した。また、膜外部分の特異抗体を作製した。結晶化に好適な界面活性剤の種類と条件を徹底的に検討した。このような準備が整い、結晶化条件の探索にとりかかった。現在、 F_0F_1 および F_0 の擬結晶を生じる条件が見つかった。 F_1 モーターのドライブユニットである3個の β サブユニットのうち一つを1%の活性のものに置き換えたキメラを作製し、その回転挙動から1つの β が360度のどこで回転に寄与するか、解明した (文献2)。同様の方法で一つの β に蛍光色素を固定して回転に伴う偏光面の遷移を1分子で観察して、回転に伴う β の構造変化をリアルタイムで検出した (文献1)。 F_0F_1 の制御サブユニット ε にATPが結合した構造をNMRおよび結晶解析で決定した (文献3)。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

(理由) F_1 モーターの機能解析は期待通りに進行した。制御サブユニット ε の構造解析は得心のいく成果と言える。ただし、結晶解析は本当の勝負はこれからである。

4. 今後の研究の推進方策

今後は、ほぼ全力を結晶解析に集中する。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕 (計3件)

① Masaike T, Koyama-Horibe F, Oiwa K, Yoshida M, Nishizaka T. Cooperative three-step motions in catalytic subunits of F_1 -ATPase correlate with 80 degrees and 40 degrees substep rotations. *Nat Struct Mol Biol*. 2008; 15: 1326-33. 査読有

② Ariga T, Muneyuki E, Yoshida M. F_1 -ATPase rotates by an asymmetric, sequential mechanism using all three catalytic subunits. *Nature Struct Mol Biol*. 2007; 14: 841-846. 査読有

③ Yagi H, Kajiwara N, Tanaka, Tsukihara T, Kato-Yamada Y, Yoshida M, Akutsu H. Structures of the thermophilic F_1 -ATPase ε subunit suggesting ATP-regulated arm motion of its C-terminal domain in F_1 . *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007; 104: 11233-11238. 査読有

〔学会発表〕 (計1件)

M. Yoshida "Mechanism and regulation of F_0F_1 -motor" Plenary lecture at 15th European Bioenergetics Conference 2008. July 20, 2008. Dublin (Ireland)