

F1-ATPase は FoF-ATP 合成酵素の触媒部分で、ATP の加水分解/合成と、分子内部の g サブユニットの回転を可逆的に共役させる分子モーターである。従来この分子モーターの研究は ATP の加水分解による回転を中心に進んできたが、2014 年度は、現 東北大学准教授の鳥谷部祥一氏との共同研究で、回転電場法を用いて合成方向の外部トルクを加え、その結果を論文として発表できた (New J. Phys. 17 (2015) 015008)。

この研究では、回転プローブに人工的に制御した外部トルクを印可することで外部から加えられた仕事を決定し、回転中のプローブの非平衡揺らぎから、プローブからのエネルギー散逸を求めた。そしてプローブに対する仕事とプローブからの散逸の差が F1 モーターに伝わったエネルギーであるとして、それと ATP 合成の自由エネルギーを比較した (図 1)。その結果、両者の比は広い実験条件下でほぼ 1 となり、平衡から離れて有限速度で動いている系でも自由エネルギー変換の効率がほぼ 100% に保たれていることが分かった。これは F1 モーターの内部での散逸が非常に低く抑えられていると解釈でき、ナノサイズの分子モーターが持つ特性であると考えられる。

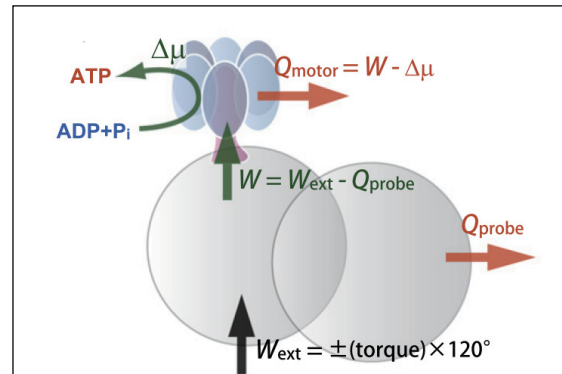


図 1 回転電場法によりプローブに加えられた仕事 W_{EXT} とプローブからの散逸 Q_{probe} 、F1 モーターに伝わった仕事 W 、F1 モーターからの散逸 Q_{motor} 、ATP 合成の自由エネルギー $\Delta\mu$ の関係。

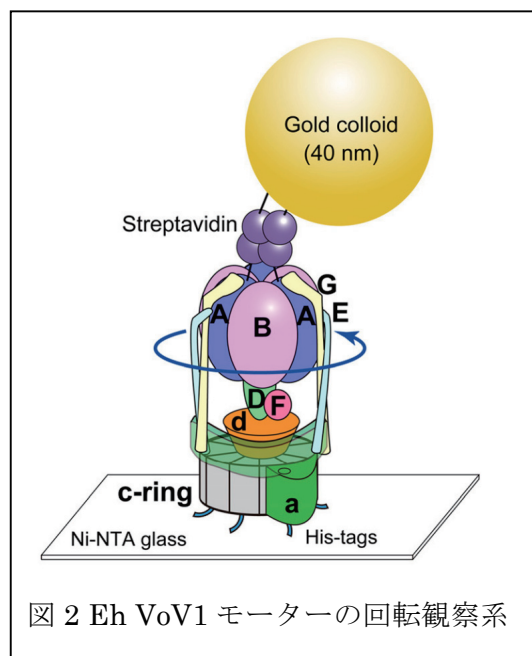
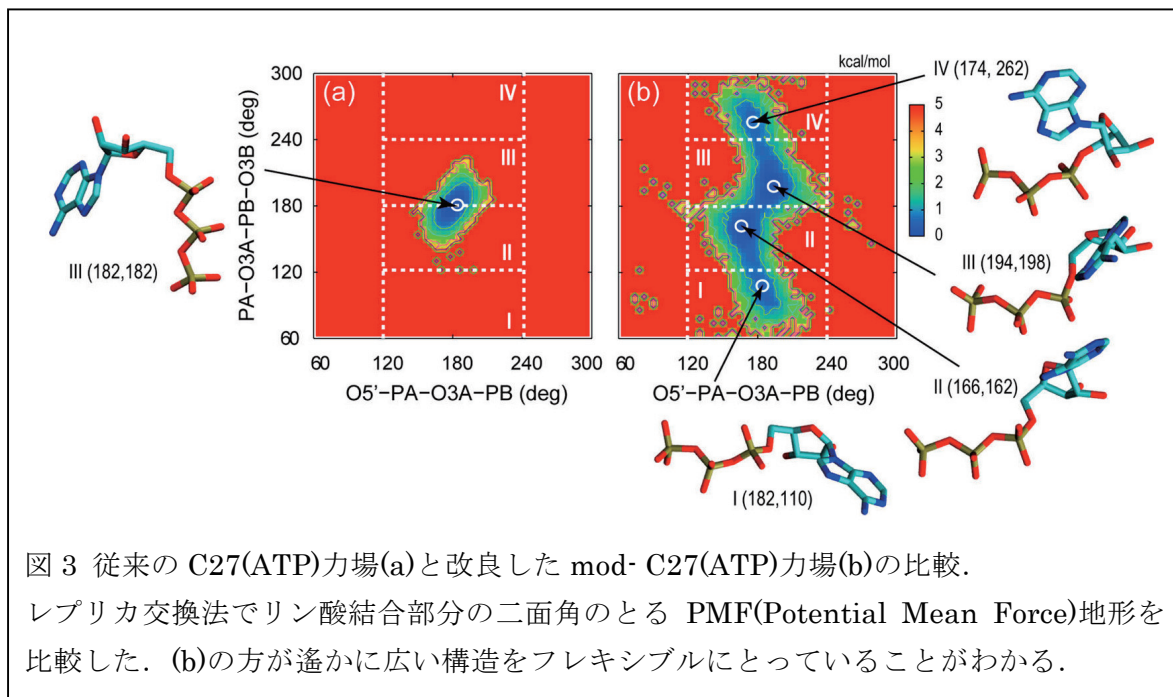


図 2 Eh VoV1 モーターの回転観察系

一方 FoF1 モーターと類似性のある *Enterococcus hirae* 由来の VoV1 モーター (Eh VoV1) についても回転実験を行った (J. Biol. Chem. 2014 289(45): 31212-23)。この Eh VoV1 モーターは、 Na^+ を共役イオンとして輸送するため、将来的に Na^+ 濃度を変化させてイオン輸送と回転の関係を調べられる可能性がある (H^+ 輸送性の FoF1 では、 H^+ 濃度を変えることの影響が多岐にわたり、解釈が難しくなる)。本研究では、Eh VoV1 の大量発現系と回転観察系を構築し (図 2)、Eh VoV1 モーターと Eh V1 モーターの回転特性を比較した。その結果、Eh V1 モーターと比較して、Eh VoV1 モーターは安定なはっきりしたステップ回転を見せ、Vo 部分の存在がモーターの構造を安定化しているものと考えられた。揺らぎの定理を用いたステップ回転時のトルクは F1 モーターよりかなり小さく、この結果は生理的な役割の違いを反映しているのかも知れないと考えられる。

また、従来、分子動力学計算で使われてきた CHARMM27 力場の ATP(C27(ATP)) の三リン酸部分がメチルニリン酸をモデルとして作られており、タンパク質への結合状態を必ずしも忠実に再現しないため、このモデルの改良を試みた。メチルニリン酸の代わりにメチル三リン酸をモデルとし、MP2/6-31+G* レベルの高精度な *ab initio* 量子化学計算を行い改良した

(J. Chem. Theory Comput. (2014) 10:4133–4142). この結果，従来の力場による ATP に比べて格段に多くのコンフォメーションをフレキシブルに取り得るようになり，X 線結晶解析により得られた複合体の構造の再現性も高くなった（図 3）。



この改良 ATP 力場は今後の研究に広く役立つものと思われる。

その他に技術的なことであるが，昨年 12 月の領域横断研究会「細胞力学と細胞運動の協奏」で九州大学の水野大介先生の研究室で顕微鏡の焦点保持装置を見学させて頂き，大変参考になった。我々の研究室でも簡略化した装置を構築中で，今後の研究に役立つことを期待している。水野先生にはこの場をお借りして御礼申し上げたい。

参考文献:

- (1) Shoichi Toyabe and Eiro Muneyuki, New J. Phys. 17 (2015) 015008
- (2) Ueno H, Minagawa Y, Hara M, Rahman S, Yamato I, Muneyuki E, Noji H, Murata T, Ino R. J Biol Chem. (2014) 289, 31212-23.
- (3) Yasuaki Komuro, Suyong Re, Chigusa Kobayashi, Eiro Muneyuki, and Yuji Sugita, , J. Chem. Theory Comput. (2014) 10:4133–4142.