

微細構造解析プラットフォームにおける利用成果

酸化リン酸を担う複合体のクライオ電子顕微鏡による構造機能解析

京都産業大学

横山謙, 佐伯詩織, 中野敦樹

【目的】

酸化リン酸は生体を支える ATP を作る重要な反応である。呼吸を司る呼吸鎖複合体によって作り出されるプロトン駆動力により、ATP合成酵素が ADP をリン酸して ATP が合成される。ATP合成酵素は、回転触媒機構によって、プロトン駆動力と ATP合成反応をエネルギー共役させる。FoF1 型と V型の ATP 合成酵素に大別されるが、今回の研究では、V型の ATP合成酵素のクライオ電顕による動的構造解析を行った。

好気性細菌 *Thermus thermophilus* (*T. thermophilus*, *Tth*) 由来 VoV1 の V1 部分は、ABopen, ABsemi, ABclosed の3つの AB 2 量体から成る A3B3 と中心の DF 軸からなり、ATP の加水分解で DF を回転させる。1分子回転観察実験から、回転することはわかっていたが、その仕組みは明らかになっていなかった。昨年度までの研究により、回転に伴う3つの構造状態を決定し、これらを繋ぎ合わせることで、触媒中の分子の動きを再現することができた。しかし、3つの触媒部位のうち2つに ADP が結合しており、ADP 阻害になっていると考えられる。回転中間体の構造を明らかにするため、ADP 阻害になりにくい変異体 *Tth* VoV1 (TSSA) を用い、ATP 待ち条件、触媒待ち条件での中間体構造を、クライオ電子顕微鏡を用いた単粒子解析により決定した。

【成果】

ATP γ S 飽和条件下で *Tth* VoV1 の構造解析を行ったところ、ATP 加水分解待ちの VoV1, V1EG の10種類の構造を決定した。また、低 ATP 濃度条件下により得られた ATP 結合待ち構造も解析した。これらの構造から、これまでに提唱されてきた V-ATPase の回転触媒機構とは異なるメカニズムを示唆することができた(下図)。

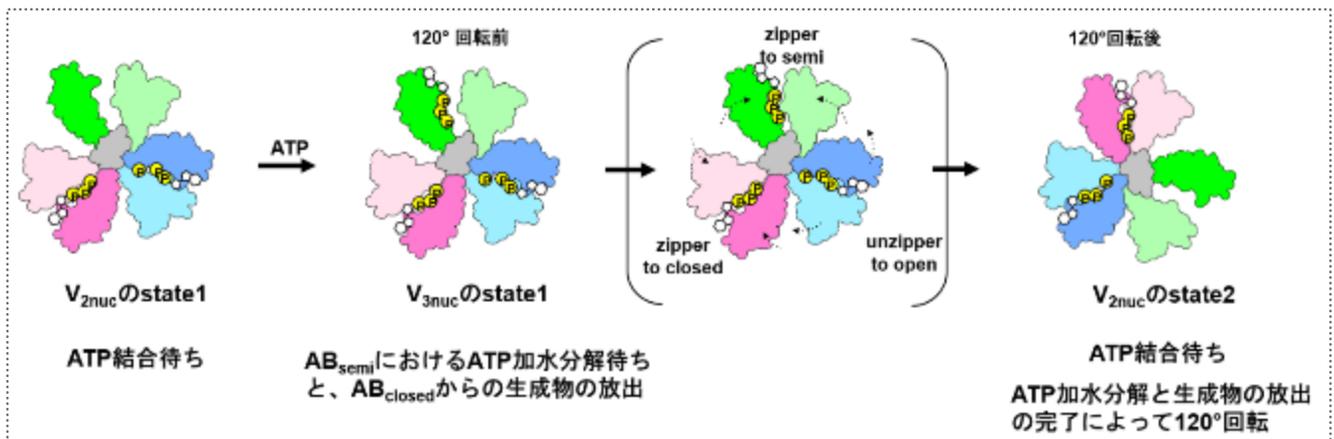


図1 ATP合成酵素のクライオ電顕による動的構造解析から提唱された従来と異なる回転触媒機構