トピックス
新進鋭
シリーズ

第48回 日本生物物理学会年会 若手招待講演

F₁-ATPaseの回転のメカニズムにおける
水のエントロピーの重要性

吉留 崇 京都大学エネルギー理工学研究所

1. はじめに

F₀F₁-ATPase は生体内膜に埋もれた F₀ 部分と可溶性の F₁ 部分から構成され、F₀ 部分におけるプロトン輸送に共役して F₁ 部分において ADP と無機リン酸塩 (Pi) から ATP を合成する。単離した F₁-ATPase は ATP との結合→加水分解→分解生成物の遊離という化学プロセスを繰り返しながら回転する。X線結晶構造解析によると、 γ サブユニットの周りに α サブユニットと β サブユニットが交互に並んでいる (図 1a)¹⁾。上記の化学プロセスを繰り返しながら、 γ サブユニットは F₀ 側から見て反時計回りに回転する。ATP 1 分子を加水分解する間に γ サブユニットが 120° 回転する。またこの回転にはサブステップが存在する²⁾。まず ATP の結合によって 80° 回転しサブステップに達する (ATP 加水分解待ち状態)。その後 ATP 加水分解が起こり、Pi が遊離する際 40° 回転する。1 分子測定によると結晶構造は ATP 加水分解待ち状態に対応する^{3), 4)}。したがって結晶状態 (図 1a) から出発するとまず 40° 回転し (図 1b)、その後 80° 回転する (図 1c)。

結晶構造¹⁾によると、3つの β サブユニットのうち 2つ (β_{TP} と β_{DP}) はヌクレオチドを結合して閉じており、残り (β_E) は開いている。触媒サイトは β サブユニットにあり、隣接する α サブユニットとの間のインターフェイスに存在する (α_{DP} , α_{TP} , α_E をそれぞれ図 1a のように定義する¹⁾)。ATP 加水分解は β_{DP} サブユニットで起こる。 γ サブユニットが 120° 回転する間に、3つの β サブユニットが構造変化する。120° 回転前後の構造は同じである。

β サブユニットと γ サブユニットとの間の直接的な相互作用が回転に重要ではないかと考えるかもしれない。しかし、 γ サブユニットと静電相互作用をする β サブユニットの DELSEED モチーフとよばれる荷電性アミノ酸残基の領域をアラニンに置換しても回転する⁵⁾。さらに DELSEED モチーフと相互作用している

図 1

(a) 結晶構造¹⁾の F₀ 側から見た模式図。黄線はサブユニット間のインターフェイスにおいて密にパックしていることを表す⁸⁾。(a)→(b)→(c)の順番に構造が変化する。3本の円弧は3つのサブ複合体を表す⁷⁾。サブ複合体は結晶構造図 1a における位置で定義する (図 1a と図 1c を参照)。40° の回転に伴い図 1a とは異なる構造に変化するので、図 1b の β_{DP}^{HO} 以外のサブユニットにはプライムをつけた。Pi の放出に関しては、 β_{DP} から放出される説と β_E から放出される説があり¹⁰⁾、いまだ解決していない。いずれの場合でも回転の描像には影響しない。

箇所を含む、 γ サブユニットのかなりの部分を削っても正しい方向に回転する⁶⁾。これらの結果は直接的な相互作用ではない、別の因子により回転が引き起こされることを強く示唆する。

最近われわれは、「水のエントロピー」を主体とした F₁-ATPase の回転のメカニズムを提案した⁷⁾。この解説ではその概略を紹介する。

2. 水のエントロピーに着目した回転のメカニズム

F₁-ATPase の結晶構造では、サブユニット間のインターフェイスのパッキングが著しく不均一である。図 1a に示すように、特に γ , β_{DP} , α_{DP} , α_E の4つのサブユニットが密にパックしている⁸⁾。結晶構造から

Crucial Importance of Translational Entropy of Water in Rotation Mechanism of F₁-ATPase

Takashi YOSHIDOME

Institute of Advanced Energy, Kyoto University

※図 1 は、電子ジャーナル (<http://www.jstage.jst.go.jp/browse/biophys/-char/ja/>) ではカラー版を掲載しています。

γ サブユニットが 40° 回転すると β_{DP} サブユニットが閉じた構造から半分開いた構造 (β_{DP}^{HO} とよぶ) に変化するため³⁾, この密なパッキングは β_{DP} サブユニットの構造変化を効率的に γ サブユニットの回転に結び付けるのに必要だと考えられる。

われわれは「不均一性と γ サブユニットの回転を結び付けるものが水のエントロピーである」と考え、研究を行った⁷⁾。水のエントロピー (水和エントロピー) の詳細は解説⁹⁾ を見ていただくことにして、ここでは概説にとどめる。密なパッキングは疎水相互作用により形成される。この相互作用は水のエントロピーによって駆動されることが知られている。タンパク質が水中にあるとき、水分子の重心が入れない**排除空間**がある。タンパク質が密にパックすると排除空間のオーバーラップが起こり、排除空間の容積が減少する。このことにより水分子の並進移動に可能な領域が増大し、水のエントロピーが増大する。水のエントロピー効果によってタンパク質原子間に生じる相互作用は、水を介した間接的なものであり、水分子の数倍程度原子間距離が離れていても働く、かなり長距離なものである。

γ サブユニットの回転により、サブユニット間のインターフェイスのパッキングだけでなく、3つの β サブユニットの構造も変化するので、われわれは結晶構造 (図 1a) を以下の3つのサブ複合体に分解し、それぞれの水のエントロピーを計算した。

サブ複合体 I: $\gamma, \beta_E, \alpha_E, \alpha_{TP}$

サブ複合体 II: $\gamma, \beta_{TP}, \alpha_{TP}, \alpha_{DP}$

サブ複合体 III: $\gamma, \beta_{DP}, \alpha_{DP}, \alpha_E$

計算には、水のエントロピーに対応する物理量を短時間にかつ正確にできる、分子性流体の統計熱力学理論に基づく方法論⁹⁾ を使った。計算の結果、水のエントロピーはサブ複合体 I < サブ複合体 II < サブ複合体 III の順番であった。

γ サブユニットが 120° 回転するとサブ複合体レベルでの構造変化が起こる (具体的な変化は図 1c を参照いただきたい)。その結果元の構造に戻るので、回転前後で F₁-ATPase の水のエントロピーは変化せず、ATP 加水分解による自由エネルギー分だけ系の自由エネルギーは下がる。しかし回転の前後においてサブ複合体 I では 540 kJ/mol, サブ複合体 II では 1010 kJ/mol の水のエントロピー利得, サブ複合体 III では 1550 kJ/mol の水のエントロピー損失がそれぞれ生じていることがわかった。これらの変化はおもに排除容積変化によって生じる。120° の回転に伴いサブ複合

体 I と II でそれぞれ 2184 Å³, 2918 Å³ の排除容積の減少, サブ複合体 III では 5102 Å³ の排除容積の増大が起こる。サブ複合体 III で生じる損失は非常に大きく、損失をうまく補償しながら回転しないと、非常に大きな自由エネルギー障壁を越えなければならなくなり、回転できないと考えられる。

たとえば図 1a → 1b の場合、結晶構造から γ サブユニットが回転するに伴い β_{DP} サブユニットが開いていく。この構造変化はサブ複合体 III のパッキングを崩してしまい、水のエントロピー損失がサブ複合体 III で生じる。しかし γ サブユニットの反時計回りへの回転により、サブ複合体 II のパッキングはより密になり、水のエントロピー利得が生じる。この利得により損失を補償しながら回転すると考えられる。さらに電荷をもつ Pi の放出は、水和による系のエネルギーの減少をもたらすと考えられる。よって系の自由エネルギーは図 1a → 1b で減少する。図 1b → 1c に関しては論文⁷⁾ を参照いただきたい。

描像の妥当性を調べるためには図 1b の結晶構造が必要であるがこれまで得られていない。われわれは現在、図 1a から 16° 回転した結晶構造が報告されている Yeast の F₁-ATPase の構造を使って描像の妥当性を調べている。解析途中であるが、描像とコンシステントな結果が得られている。この研究は京都大学の木下正弘先生および横浜市立大学の池口満徳先生、伊藤祐子氏と共同で行われた。池口満徳先生にはこの原稿に対してコメントをいただいた。

文 献

- 1) Abrahams, J. P. *et al.* (1994) *Nature* **370**, 621-628.
- 2) Yasuda, R. *et al.* (2001) *Nature* **410**, 898-904.
- 3) Masiike, T. *et al.* (2008) *Nat. Struct. Mol. Biol.* **15**, 1326-1333.
- 4) Okuno, D. *et al.* (2008) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **105**, 20722-20727.
- 5) Hara, K. Y. *et al.* (2000) *J. Biol. Chem.* **275**, 14260-14263.
- 6) Furuie, S. *et al.* (2008) *Science* **319**, 955-958.
- 7) Yoshidome, T. *et al.* (2011) *J. Am. Chem. Soc.* **133**, 4030-4039.
- 8) Ito, Y., Ikeguchi, M. (2010) *J. Comp. Chem.* **31**, 2175-2185.
- 9) Kinoshita, M. (2009) *Int. J. Mol. Sci.* **10**, 1064-1080.
- 10) Adachi, K. *et al.* (2007) *Cell* **130**, 309-321.

吉留 崇

吉留 崇 (よしどめ たかし)

京都大学エネルギー理工学研究所特定助教

研究内容: 水の並進エントロピーに着目したタンパク質折り畳み・変性および ATP 駆動タンパク質の研究。

連絡先: 〒 611-0011 京都府宇治市五ヶ庄

E-mail: t-yoshidome@iae.kyoto-u.ac.jp