トピックス
新進気鋭
シリーズ

第52回 日本生物物理学会年会 若手招待講演

F₁-ATPase の機能的運動のマルチスケールな解析: リン酸解離から γ サブユニット回転の弾性・摩擦まで

岡崎圭一 マックスプランク生物物理学研究所

1. はじめに

ATP 合成酵素は、バクテリアからヒトまで、あらゆる生物の生命活動に必須なエネルギー源 ATP を合成する酵素である。この ATP 合成酵素は、プロトン勾配を回転運動に変換する膜部分の F₀ モーターと、ATP を合成する触媒部分の F₁ モーターからなっている。F₁ モーター自体は、ATP を加水分解して回転子 γ サブユニットを逆方向に回転させるナノモーターである。それぞれ異なるエネルギー源によって駆動される 2 つのモーターが共通の回転軸 γ サブユニットを通して動く仕組みを理解するには、局所的な変化と大規模な回転運動をつなぐマルチスケールな解析が不可欠である。

2. F₁-ATPase における化学力学共役メカニズム

初めて F₁ モーターの γ サブユニットの回転を直接観察した 1997 年の一分子実験から、日本のグループを中心にその回転メカニズムの解明が行われてきた¹⁾⁻³⁾。そこでの主な興味は、F₁ モーターの 3 つの触媒部位におけるスクレオチド状態と γ サブユニットの回転がどのように共役しているのかという化学力学共役メカニズムについてである (図 1)。主なポイントは、1) 構造から予想される 120° ステップは、80° + 40° サブステップからなる、2) 80° サブステップは、ATP 結合・ADP 解離と共役している、3) 40° サブステップは、加水分解反応・リン酸解離と共役している、4) 多くの結晶構造は、40° サブステップ前の加水分解待ち状態に対応する^{4), 5)}、といったところである。

最後に残った問題は、40° サブステップで解離するリン酸が、どの触媒部位から解離しているのかということである。これには 2 つの可能性がある。3 つの触媒部位のうちの 1 つに注目して、そこに ATP が結合したときの γ の角度を 0° とすると、200° でその ATP が加水分解される。その直後の 200° か、320° のどちらでリン酸が解離しているのか、一分子実験で議論が分かれた^{6), 7)}。結晶構造が加水分解待ち状態に対応

図 1 (A) F₁-ATPase の結晶構造, (B) 多くの一分子実験からまとめられた化学力学共役スキーム, (C) シミュレーションから得られた、リン酸解離経路。DP サイトからを緑色、E サイトからを赤 (紫色) で示している, (D) リン酸解離の自由エネルギープロファイル。色は (C) と同じ意味。

することを考慮すれば、リン酸が解離するのは DP サイト (200°) か、E サイト (320°) かという問題になる (図 1)。

3. リン酸解離のシミュレーション

リン酸が解離するのは DP サイトか、E サイトかという問題に、全原子分子動力学 (MD) シミュレーションを使って取り組んだ⁸⁾。しかしながら、溶媒分子も含めた F₁-ATPase の系は、約 30 万原子とかなり大規模になるため、機能的時間スケール (ミリ秒) のシミュレーションは非現実的である。そこで、外力を加えて機能的運動を促進させる手法の 1 つである Metadynamics

Multiscale Analysis of Functional Motions in F₁-ATPase: From P_i Release to Elasticity and Friction of γ -subunit Rotation

Kei-ichi OKAZAKI

Department of Theoretical Biophysics, Max Planck Institute of Biophysics

を用いて、リン酸解離のシミュレーションを DP サイトからと E サイトから行った。すると、2つのサイトからまるで異なる経路で解離することが分かった (図 1C)。E サイトからは、P-loop (青色で示されている) を経由して外向きに解離するのに対して、DP サイトからは、リングの内側に向かって解離する経路を取る。この過程の自由エネルギーを見積もると、E サイトからの障壁は $\sim 5\text{--}10\text{ kcal/mol}$ なのに対して、DP サイトから障壁は $\sim 30\text{ kcal/mol}$ とかなり高い。さらに、この自由エネルギープロファイルとリン酸の拡散係数から計算された時定数を実験と比べると、E サイトから2個のリン酸イオンが解離する場合に実験値とよく合うことが分かった。

この E サイト (320°) でのリン酸解離という結果は、逆反応の ATP 合成過程に重要な示唆を与える。つまり、その場合、リン酸が ADP より先に結合することを意味するので、このリン酸が結合したサイトは、ATP より ADP を選択的に結合することで、効率の良い ATP 合成を可能にしていると考えられる。

4. γ サブユニット回転の弾性と摩擦

F₀ の c リングと F₁ リングの間には、対称性のミスマッチがあることが知られている。F₁ リングは3回対称だが、動物のミトコンドリアでは、c リングは8回対称である。つまり、共通の回転軸 γ は、F₁ リング部分では 120° ステップ (もしくは、 $40^\circ + 80^\circ$ サブステップ) なのに対して、F₀ の c リング部分では 45° ステップすることになり、ねじれが避けられない。そこで、 γ のねじれ弾性を見積もるため、F₁ の全原子 MD シミュレーションで γ にトルクをかけたトラジェクト

リを使って、簡単な物理モデルを構築した (図 2A)。 γ は、ねじればねでつながれた2つのビーズからなり、それぞれ異なる摩擦環境 (異なる拡散係数) をもつ。さらに、コア部分 x_1 がリングから受ける相互作用や、トルクポテンシャルを考慮して、全原子 MD トラジェクトリにフィッティングした (図 2B)。その結果見積もられた、ねじれ弾性は一分子実験の結果とよく一致した。また、得られた摩擦係数から、負荷なしでの最大回転速度を見積もると、1 MHz にも達することが分かった。この予測は、より小さいプローブを用いた一分子実験で確かめられうと考える。この回転速度は、あくまで待ち状態間遷移の速度である。

5. おわりに

F₁-ATPase における局所的なリン酸解離と、大規模な γ サブユニット回転における力学的特性を、全原子分子動力学シミュレーションに基づいて明らかにした。今後、F₀ 部位を含めた ATP 合成酵素全体の動作メカニズムに迫っていきたい。

謝 辞

本研究は、Gerhard Hummer 博士との共同研究である。

文 献

- Noji, H. *et al.* (1997) *Nature* **386**, 299-302. DOI: 10.1038/386299a0.
- Adachi, K. *et al.* (2007) *Cell* **130**, 309-321. DOI: 10.1016/j.cell.2007.05.020.
- Watanabe, R. *et al.* (2012) *Nat. Chem. Biol.* **8**, 86-92. DOI: 10.1038/nchembio.715.
- Okuno, D. *et al.* (2008) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **105**, 20722-20727. DOI: 10.1073/pnas.0805828106.
- Okazaki, K., Takada, S. (2011) *Structure* **19**, 588-598. DOI: 10.1016/j.str.2011.01.013.
- Watanabe, R. *et al.* (2010) *Nat. Chem. Biol.* **6**, 814-820. DOI: 10.1038/nchembio.443.
- Shimo-Kon, R. *et al.* (2010) *Biophys. J.* **98**, 1227-1236. DOI: 10.1016/j.bpj.2009.11.050.
- Okazaki, K., Hummer, G. (2013) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **110**, 16468-16473. DOI: 10.1073/pnas.1305497110.

図 2 (A) γ 回転の物理モデル。 x_1 はビーズの回転角を表し、 D_i は拡散係数を表す。(B) 全原子トルクシミュレーションにおける角度変化 (x_1 を赤、 x_2 を緑) と、物理モデルによるフィッティング (quasi-equilibrium モデルを黒点線、Langevin モデルを橙実線で示す)。

岡崎圭一 (おかざきけいいち)

マックスプランク生物物理学研究所・理論生物物理部門博士研究員。

2009 年神戸大学自然科学研究科修了、博士 (理学)。学振 PD、海外学振、米国国立衛生研究所を経て、現職。

研究内容: 主に Bioenergetics に関する生体分子のシミュレーション

連絡先: Max-von-Laue-Straße 3

D-60438 Frankfurt am Main, Germany

E-mail: keiichi.okazaki@biophys.mpg.de