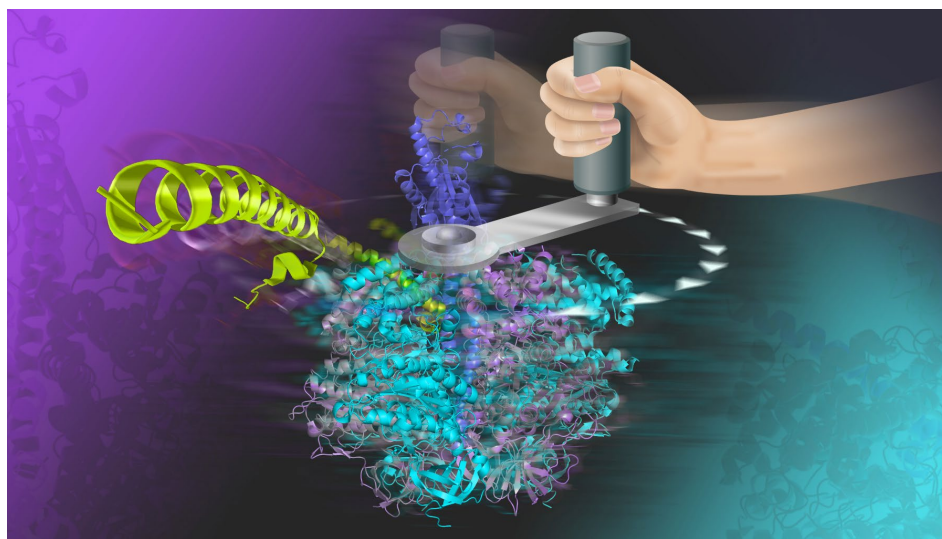


東京大学
分子科学研究所

回転分子モーターの動きをコントロールする「留め金」は モーターの回転方向に依存して外れる ——ATP 合成酵素の制御機構の解明——

発表のポイント

- ◆回転分子モーターである ATP 合成酵素の「留め金」として働く回転制御因子 IF_1 は、モーターが時計回り方向に回転するときのみ外れやすいという、回転方向に依存した解離機構を持つことを明らかにしました。
- ◆回転方向に依存した制御機構には「留め金」とモーターの回転子との接触が重要であることを示し、 IF_1 のアミノ酸残基ごとの役割を明らかにしました。
- ◆今回の研究で解明された「 IF_1 の回転方向依存的な制御機構」は無駄な ATP 分解を抑えるという生化学的な要求と合致しており、これらの知見は新規制御因子のデザイン・創成につながると期待されます。



モーターを時計回りに回転させることで「留め金」が外れる様子

発表概要

東京大学大学院工学系研究科の小林稜平特任研究員（研究当時、現所属：分子科学研究所計算科学研究センター 日本学術振興会特別研究員）、上野博史講師、野地博行教授、分子科学研究所の岡崎圭一准教授らの研究グループは、回転分子モーターである ATP 合成酵素の制御因子 IF_1 がモーターの回転方向に依存して解離するという制御機構を明らかにしました。これまでの研究では、モーターの回転を止めるための「留め金」として働く IF_1 が「どのように回転を止めるか」については理解が進んでいたものの、「どのようにモーターから外れるか」については不明のままでした。本研究では磁気ピンセットと呼ばれる電磁石対を用いることで、モーターに結合した IF_1 が効率的に解離する条件を調べました。その結果、モーターを時計回り方向

に強制回転させた場合に IF_1 が外れる現象が観察されました。ATP 加水分解時にはモーターが反時計回り方向に回転するため、 IF_1 を解離させるにはモーターを自律的な回転方向とは逆の、ATP 合成方向へ回転させる必要があることがわかりました。つまり、この性質は IF_1 が無駄な ATP 分解反応を抑制するという生化学的な観察結果に合致しており、モーターの回転方向に依存した IF_1 の解離機構が明らかになりました。また、 IF_1 を構成するアミノ酸を段階的に削除した変異体を用いた実験により、回転方向依存的な IF_1 解離機構にはモーターの回転子と IF_1 の接触が重要であることが示唆されました。これらの結果は、回転分子モーターの制御機構を明らかにしただけでなく、 IF_1 をベースとした新たな制御タンパク質の人工設計や創成につながることを期待されます。

発表内容

〈研究の背景〉

アデノシン 3 リン酸 (ATP) はあらゆる生物の生命活動の維持に必須であり、「生物のエネルギー通貨」として知られています。生体内でその大部分を産生しているのが ATP 合成酵素 (F_0F_1) というタンパク質です。 F_0F_1 は、膜に内在してプロトン (H^+) を輸送する F_0 モーターと、膜外に存在して触媒反応を担う F_1 モーターと呼ばれる 2 つの回転分子モーターが結合した複合体です。すなわち、生体膜間に形成される膜電位 (注 1) に沿って H^+ が移動するときに ADP と無機リン酸 (P_i) から ATP が合成されています。この酵素は膜内外に形成されたプロトン駆動力 (注 2) の大小によって両方向に回転することができます。つまり、ATP 合成を行うときは膜から見て時計回り方向に、ATP 分解を行うときは反時計回り方向に回転します。

通常、生体内では F_1 モーターは時計回り方向に回転して ATP 合成反応を触媒します。しかし、疾病などによりプロトン駆動力が低下すると、 F_1 は反時計回り方向に回転して ATP 分解反応を触媒します。これは ATP の浪費につながるため、生体内では厳密に制御されています。ATP 加水分解反応を制御するシステムとして、ミトコンドリア型 F_0F_1 には IF_1 (ATPase inhibitory factor 1) と呼ばれる制御因子が存在しています。 IF_1 は、プロトン駆動力が高く維持された条件では F_0F_1 による ATP 合成反応は阻害しないものの、プロトン駆動力が低下すると F_0F_1 による ATP 加水分解反応を阻害することが知られています (図 1)。これまでの研究では、 IF_1 がどのように F_1 モーターの回転を止めるかについては理解が進んでいたものの、 F_1 モーターからどのように外れるかについては不明のままでした。

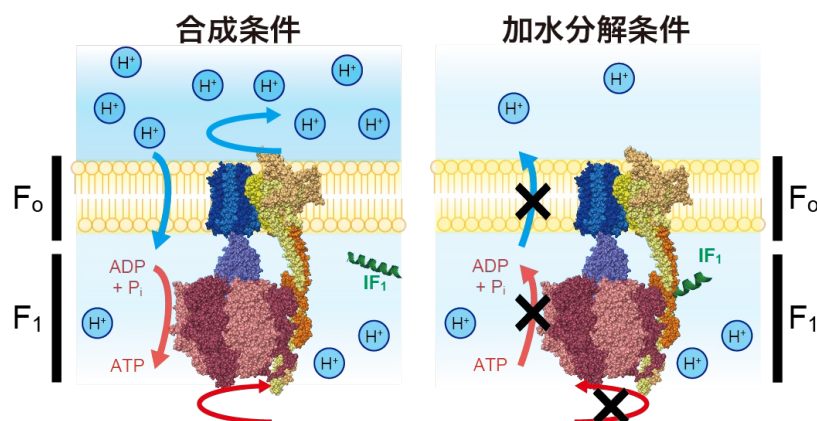


図 1 : ATP 合成酵素と IF_1 の作用条件

〈研究の内容〉

上述の背景のもと、本研究グループは光学顕微鏡を用いて F_1 の回転を観察する 1 分子回転観察法により IF_1 解離反応の解析を試みました。 F_1 モーター単体では、ATP を加水分解しながら反時計回り方向に回転します。そこに IF_1 を加えると、 F_1 モーターの回転が停止します。外部から力を加えない条件では、 IF_1 阻害状態の F_1 は停止したままで自発的に回転を再開することはありませんでした。そこで、磁気ピンセットを用いて F_1 の回転子に結合した磁気ビーズに磁場をかけることで、停止状態の F_1 を強制的に回転させてその後の運動を観察しました (図 2)。

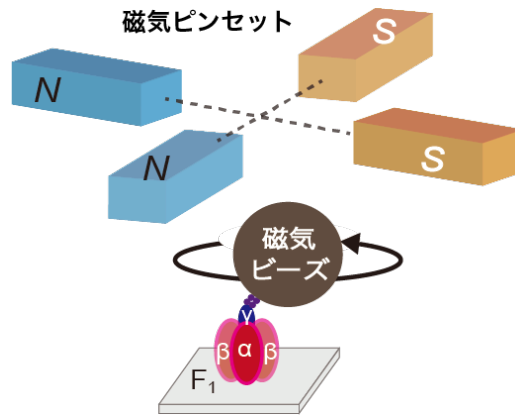


図 2 : 実験模式図

ガラス面に固定した F_1 の回転子に目印となる磁気ビーズ (サイズ約 300 nm) をつけて、回転を観察する。顕微鏡上には 2 組の電磁石対からなる磁気ピンセットを取り付け、外部制御により自在に磁場を発生させる。これにより、 F_1 の動きを操作することができる。

その結果、停止した F_1 を時計回り方向に回転させると IF_1 が外れる現象が観察されました。加水分解時に F_1 は反時計回り方向に回転することを考えると、 IF_1 解離には F_1 の自律的な反時計回り回転とは逆方向の回転が必要であることを意味しています。また、溶液中に ADP と無機リン酸 (P_i) が存在する場合は高い確率で回転が再開することを発見しました (図 3)。

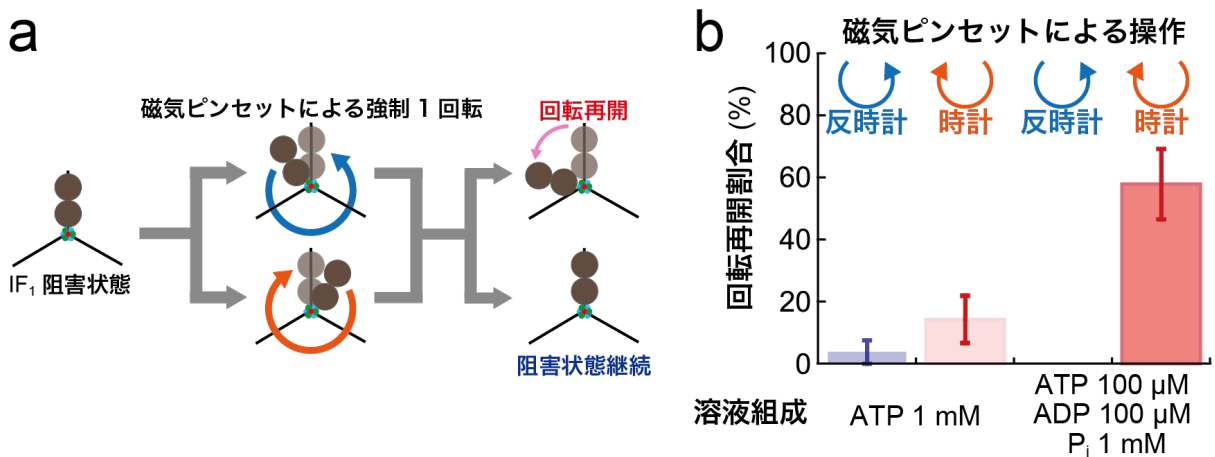


図 3 : 磁気ピンセットによる強制操作実験

(a) 実験の模式図。停止状態から強制的に操作された粒子は回転を再開するか、停止状態を継続するかのどちらかの挙動を示す。(b) 4 通りの実験条件での回転再開割合の比較。

これらの観察結果は、ATP加水分解条件ではIF₁阻害は解除されにくく、ATP合成環境になるとIF₁が解離しやすいことを意味しており、IF₁が無駄な加水分解を抑制するために働くという生化学的な要求に合致しています。つまり、F₁の回転方向に依存したIF₁の解離機構が明らかになりました。次に、IF₁による厳密な反応制御機構にはどのような相互作用が必須かを検証するために、本研究グループはIF₁を構成するアミノ酸を段階的に削除した変異体を作成し、同様の実験を行いました。その結果、回転方向依存的な制御にはF₁モーターの回転子と留め金として働くIF₁の間の相互作用が重要であることを突き止めました（図4）。

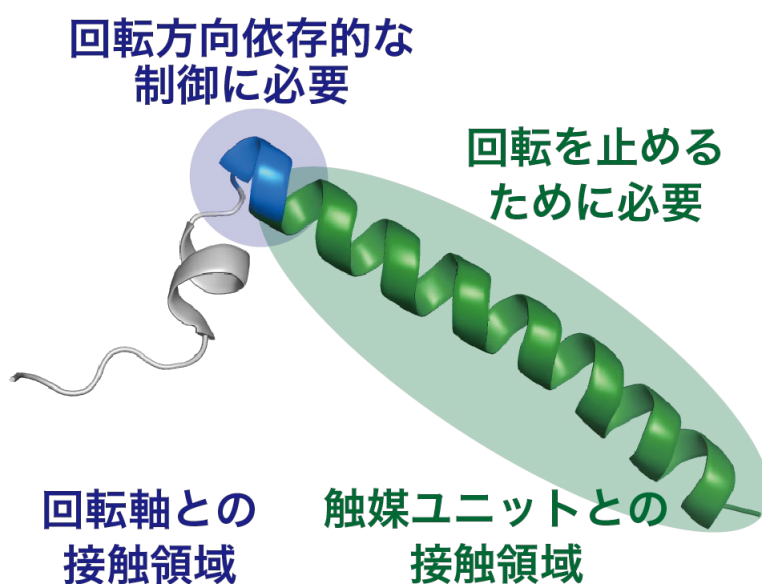


図4：IF₁のアミノ酸残基ごとの役割

〈今後の展望〉

本研究では、ミトコンドリアATP合成酵素の制御因子であるIF₁は、F₁モーターの回転方向に依存した解離機構を持つこと、その起源はF₁モーターの回転子とIF₁の接触であることが明らかになりました。ATP合成酵素の制御にはIF₁だけではなく、種によってさまざまな制御機構が存在しています。回転分子モーターの動きをコントロールする制御因子の分子メカニズムを明らかにした今回の研究は、既存の制御因子による作用機序の理解が進むだけでなく、得られた知見をもとにした新たな制御因子のデザイン・創成につながると期待されます。

発表者

東京大学大学院工学系研究科応用化学専攻

野地 博行（教授）

上野 博史（講師）

小林 稜平（特任研究員：研究当時）

〈現所属：分子科学研究所計算科学研究センター（日本学術振興会特別研究員）〉

分子科学研究所計算科学研究センター

岡崎 圭一（准教授）

論文情報

〈雑誌〉 Nature Communications

〈題名〉 Molecular mechanism on forcible ejection of ATPase inhibitory factor 1 from mitochondrial ATP synthase

〈著者〉 Ryohei Kobayashi, Hiroshi Ueno, Kei-ichi Okazaki, and Hiroyuki Noji*

〈DOI〉 10.1038/s41467-023-37182-9

〈URL〉 <https://doi.org/10.1038/s41467-023-37182-9>

研究助成

本研究は、科研費「基盤S（課題番号：JP19H05624、研究代表者：野地博行）」、ヒューマン・フロンティア・サイエンス・プログラム（HFSP）（課題番号：RGP0054/2020）、日本学術振興会（JSPS）科学研究費助成事業 新学術領域研究（研究領域提案型）（課題番号：19H05380・21H00388、研究代表者：上野博史）の支援を受けて行われました。

用語解説

（注1）膜電位：

膜の内外に存在する電位差のこと。細胞では膜の内外で存在するイオンの種類・組成が異なることで電位の差が発生する。

（注2）プロトン駆動力：

膜間に生じる膜電位とプロトン(H⁺)の濃度差からなる。これら2つの要素の組み合わせによって膜を越えたプロトンの移動方向が決定される。

問合せ先

〈研究に関する問合せ〉

東京大学 大学院工学系研究科

教授 野地 博行（のじ ひろゆき）

〈報道に関する問合せ〉

東京大学 大学院工学系研究科 広報室

自然科学研究機構 分子科学研究所 研究力強化戦略室 広報担当