

F1-ATPase は FoF1-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 γ 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。この化学反応と力学反応の共役は力学的ポテンシャルが化学状態に対応して確率的にスイッチするという描像 (図 1) でおおむね理解されてきて、我々のグループでもそのような描像に基づいてポテンシャルを解析してきた⁽¹⁾。しかし我々の以前の研究の解析法では、化学状態のスイッチを完全に不可逆的に扱うため、化学状態間のポテンシャル差は化学反応についての文献データに頼るしかないという欠点があり、反復計算の収束性も保証されていなかった。そこで、新たに化学状態のスイッチに可逆性を持たせ、計算アルゴリズムに EM アルゴリズム (expectation-maximization algorithm)⁽²⁾ を用いることにより、これらの問題を回避するプログラムを開発した。計算量は必然的にかなり増大するが、その問題は配分された予算で新たに小型ワークステーションを購入することで、かなり緩和することができた。現在、シミュレーションでつくったデータや、F1 の実測値にこのプログラムを適用して、収束性や正確性をチェックしており、おおむね良好な結果が得られている (図 2)。

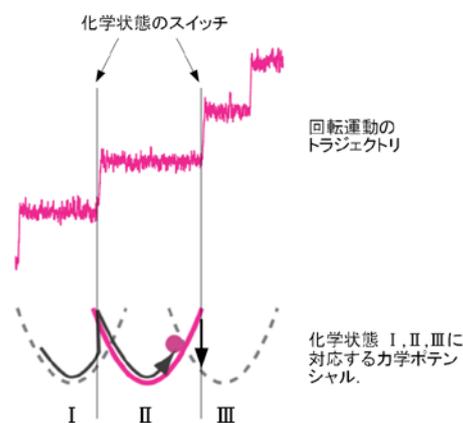


図 1. 回転分子モーターのトラジェクトリとポテンシャルのスイッチにもとづく描像の模式図。

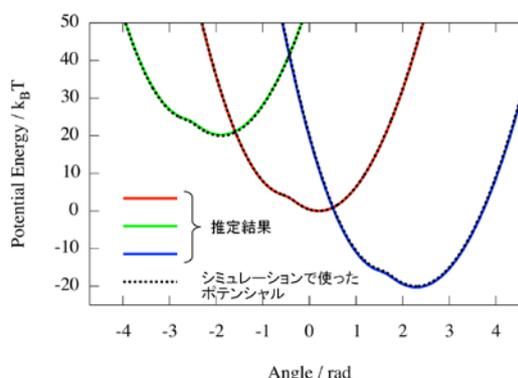


図 2. 点線で示すポテンシャルからシミュレーションでつくったトラジェクトリに対して EM アルゴリズムを用いたプログラムで推定したポテンシャル (実線)。

力学的ポテンシャルに対するもう一つのアプローチとして、川口、佐々、沙川による論文⁽³⁾の中で述べられている有効ポテンシャルが見える条件でのポテンシャル推定を行っている。川口らは ATP 濃度が高い極限では化学状態のスイッチングが実質的に見えなくなり、化学状態の異なった力学的ポテンシャルが融合したような傾いたポテンシャル上を拡散するような動きが見えるはずだと予想している。そこで、我々は与えられた化学ポテンシャルの下で反応速度がなるべく大きくなるような溶液組成を選び、実験を行った。得られた実測のトラジ

エクトリを 1° 毎に細分化し、各角度間の遷移率を求めて詳細釣り合いを適用することにより、ポテンシャル曲線を得た。このポテンシャル曲線から ATP 一分子の加水分解に対応する 120° 毎の力学的ポテンシャル差が求められるが、野生型の F1 では、この力学的ポテンシャル差が実験条件での ATP 加水分解の化学ポテンシャル差によく一致した (図 3)。これは Harada-Sasa 熱やストールトルクの測定から得られている、野生型 F1 では ATP の加水分解と力学的回転がタイトに共役しているという結論に整合している。

一方、加水分解と力学的回転の共役がややルーズになっていると考えられている β G158A, T165S, Y341W 変異体 (GT 変異体) では、 120° 毎の力学ポテンシャル差が ATP の加水分解の化学ポテンシャル差より小さくなるという予備的な結果も得られている。これも異なった方法で得られた以前の結論と定性的に整合している。ただし様々な方法で得られた結果の間関係性は必ずしも自明ではない。結果の意味について慎重に検討することは一歩深い理解に踏み込む入り口になるのではないかと考えている。以上の結果は 2017 年度中にまとめて出版できるよう鋭意努力しているところである。

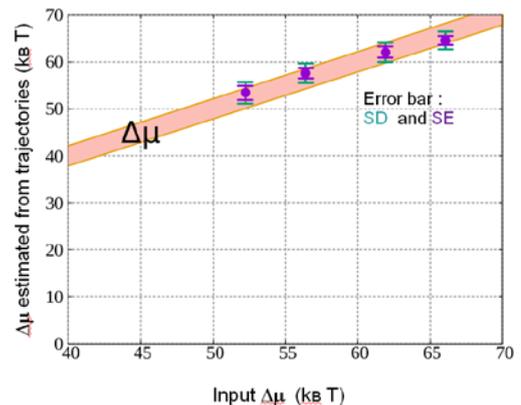


図 3. トラジェクトリにもとづく遷移確率から求めた力学ポテンシャルの推定値と入力の ATP 加水分解の $\Delta\mu$ の関係

さらに 2016 年度は、千葉大の村田博士に協力して F1-ATPase と類縁の V1-ATPase について、ATP 結合を蛍光変化で追跡し、結晶構造に見られる構造変化と対応づける実験を行った (4)。F1-ATPase と V1-ATPase は共に回転分子モーターであるが、その回転特性はかなり違っており、両者を比較することで、回転メカニズムに必須の部分と、進化の過程で環境に適応するために付加された部分を切り分けられるのではないかと期待している。

参考文献：

- (1) Shoichi Toyabe, Hiroshi Ueno, and Eiro Muneyuki, *EPL* **97**, 40004 (2012).
- (2) Dempster, A. P., Laird, N. M., Rubin, D. B. *J. Roy. Statist. Soc. Ser. B* **39**, no. 1, 1–38 (1977).
- (3) Kawaguchi, K., S. Sasa, and T. Sagawa. *Biophys. J.* **106**, 2450–2457 (2014).
- (4) Kano Suzuki, Kenji Mizutani, Shintaro Maruyama, Kazumi Shimono, Fabiana L. Imai, Eiro Muneyuki, Yoshimi Kakinuma, Yoshiko Ishizuka-Katsura, Mikako Shirouzu, Shigeyuki Yokoyama, Ichiro Yamato, and Takeshi Murata, *Nature Commun.* **7**, 13235 (2016).