



国立大学法人 千葉大学  
National University Corporation  
Chiba University



## プレスリリース

平成 23 年 11 月 15 日  
国立大学法人千葉大学理学研究科  
国立大学法人京都大学医学研究科  
独立行政法人理化学研究所

### タンパク質ナノモーターの回転軸の詳細構造を解明 —骨粗鬆症に関与する酵素の活性調節領域を同定—

千葉大学大学院理学研究科の村田武士特任准教授（独立行政法人理化学研究所生命分子システム基盤研究領域客員研究員）らは、タンパク質ナノモーターである V 型 ATPase の回転軸の詳細構造を世界で初めて解明しました。これにより V 型 ATPase の活性調節に関わる新たな領域が明らかになりました。本研究結果は、骨粗鬆症などの疾病に関与する V 型 ATPase の活性調節機構の解明に繋がるものと期待されます。

本研究は文部科学省ターゲットタンパク研究プログラム、文部科学省科学技術振興調整費等の支援を受け、京都大学医学研究科の岩田想教授、理化学研究所生命分子システム基盤研究領域の横山茂之領域長、東京理科大学基礎工学研究科の西條慎也助教、山登一郎教授らとの共同研究として行われました。本研究成果は、2011 年 11 月 14 日の週に米国科学雑誌「米国科学アカデミー紀要 (PNAS)」電子版にて公開されます。

#### <研究の背景と経緯>

V型ATPaseは、細菌からヒトまで多くの生体膜中に存在し、水素イオンを運ぶことで膜内外のpHを調整しています。V型ATPaseは骨の形成に関わる破骨細胞やがん細胞の細胞膜にも存在しており、骨粗鬆症やがん細胞の増殖・転移に関与していることが分かっています。そのため、V型ATPaseの分子メカニズムを知ることは、これら疾病の理解や創薬への応用に繋がる重要な知見になると考えられます。本研究では、V型ATPaseの活性調節のメカニズムを明らかにすることを目的に、V型ATPaseの回転軸であるDF複合体の立体構造の解明を試みました。

### <研究の内容>

V型ATPaseは、ATP分解能を持つ $V_1$ 部分とイオン輸送能を持つ $V_o$ 部分から構成されています。触媒頭部( $A_3B_3$ )をもつ $V_1$ 部分でATPを分解し、そのエネルギーを使って、 $V_o$ 部分の膜内ローターリングを回転させ、水素イオンを膜の逆側へと輸送するイオンポンプとして機能しています。回転軸はD, F, dサブユニットから形成され、 $V_1$ 部分と $V_o$ 部分の間に位置し、回転を $V_o$ 部分に伝達しています(図-1)。当研究グループは、細菌(腸内連鎖球菌)にもヒトV型ATPaseに良く似た酵素が存在することを発見し、その生化学的・構造生物学的研究を進めてきました。今回我々は、本酵素の回転軸であるDF複合体のX線結晶構造解析<sup>注1)</sup>(分解能2.0 Å)に成功しました(図-2A)。

得られたDサブユニット構造には、これまでに報告されている類似タンパク質構造にはみられない新規の $\beta$ ヘアピン領域が存在していることが明らかになりました(図-2B)。この $\beta$ ヘアピン領域を欠いた変異Dタンパク質を作製し、触媒頭部との結合能やATPase活性への影響を調べた結果、この領域はV型ATPaseの活性調節に関与することが明らかになりました。また、回転軸サブユニット間の結合親和性をSPR(表面プラズモン共鳴)法<sup>注2)</sup>により調べたところ、DF-d間の親和性は、 $A_3B_3$ -D,  $A_3B_3$ D-F間の親和性よりも弱く、この弱い結合親和性もV型ATPaseの活性調節に関わっている可能性が示唆されました。

### <今後の展開>

本研究により、V型ATPaseの活性調節に関与する新たな領域が明らかになりました。この領域はヒトなどのV型ATPaseにも存在していると推定されます。今回明らかになった知見は、V型ATPaseの活性調節機構の解明に役立つものと期待されます。

### <用語解説>

#### 注1) X線結晶構造解析

解析対象のタンパク質を結晶化し、X線照射によって得られる回折データから、タンパク質の原子レベルでの立体構造を決定する手法。

#### 注2) SPR(表面プラズモン共鳴)法

センサー表面にタンパク質を固定し、他の分子との相互作用を標識なしに高感度かつリアルタイムに測定できる手法。

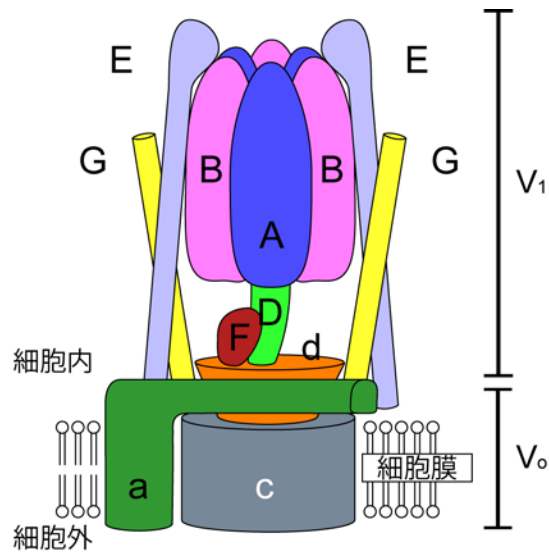


図-1 V型ATPaseの構造モデル

V型ATPaseは9-13種類のタンパク質からなる超分子複合体で、水溶性タンパク質部分（ $V_1$ 部分）と膜タンパク質部分（ $V_o$ 部分）からなる。触媒頭部（ $A_3B_3$ ）でATPを加水分解し、回転軸（DFd）とローターリング（c）を回転させ、水素イオンを細胞外へ輸送する。

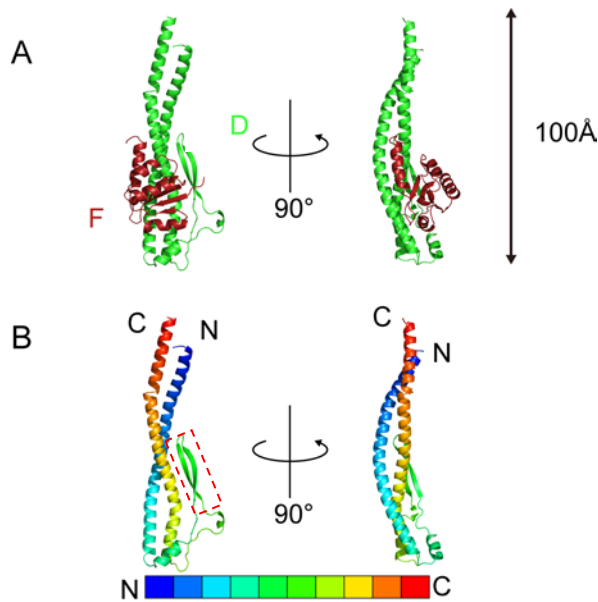


図-2 回転軸（DF複合体）のX線結晶構造

- A) DF複合体の構造（D:緑, F:赤）
- B) Dサブユニットの構造。点線の赤枠内が $\beta$ ヘアピン領域

<論文名および著者名>

Crystal structure of the central axis DF complex of the prokaryotic V-ATPase.  
*Proc. Natl Acad. Sci. USA* 印刷中

Shinya Saijo, Satoshi Arai, K. M. Mozaffor Hossain, Ichiro Yamato, Kano Suzuki,  
Yoshimi Kakinuma, Yoshiko Ishizuka-Katsura, Noboru Ohsawa, Takaho Terada,  
Mikako Shirouzu, Shigeyuki Yokoyama, So Iwata, and Takeshi Murata

本件に関するお問い合わせ先  
千葉大学大学院理学研究科特任准教授 村田武士  
Tel : 043-290-2794 Fax : 043-290-2794  
E-mail : t.murata@faculty.chiba-u.jp