

大腸菌 ATP 合成酵素における ATP 加水分解反応の阻害機構

○関谷 瑞樹<sup>1</sup>, 細川 浩之<sup>1</sup>, 中西(松井) 真弓<sup>1</sup>, 二井 將光<sup>1</sup>(<sup>1</sup>岩手医大薬)

ATP 合成酵素 ( $F_0F_1$ ) はサブユニットの回転を介してプロトン輸送と ATP の合成あるいは加水分解活性を可逆的に共役している。細胞にとって好ましくない反応である ATP の加水分解は、 $Mg \cdot ADP$  および内在性の分子  $\epsilon$  サブユニットによって抑制されている。 $\epsilon$  サブユニットは回転子である  $\gamma$  サブユニットに結合し、 $F_1$  の ATPase 活性を阻害することが知られている。本研究は、 $\epsilon$  による阻害機構を明らかにすることを目的に、 $\gamma$  の回転に対する  $\epsilon$  の影響を検討した。

ATP の加水分解を駆動力としたサブユニットの回転は金ビーズをプローブに用いて 1 分子ごとに観察した。回転は秒単位で連続的な回転と停止を繰り返す。停止は生成物である  $Mg \cdot ADP$  による阻害と考えられる。回転速度及び連続回転時間、停止時間を定量的に解析した。

$\epsilon$  サブユニットを取り除いた  $F_1$  は約 1 秒ごとに連続的な回転と停止を繰り返した。連続回転している時には毎秒約 500 回転の高速で回転した。停止時間を含めた平均速度は毎秒約 160 回転であり、ATPase 活性から予想される回転速度と一致した。したがって、多数の  $F_1$  分子の存在する定常状態の反応系では、異なる分子の  $Mg \cdot ADP$  阻害による秒単位の停止によって、ATP の加水分解は 60% 以上阻害されることが明らかになった。

一方、 $\epsilon$  サブユニットを添加すると、連続回転時間はほとんど変化せず停止時間は 3 倍に増加した。また、連続回転している時の回転速度は約 50% 低下した。このことから、 $\epsilon$  サブユニットは回転速度を低下させるとともに、停止時間を延長させることによって、 $F_1$  分子の集団に於ける ATP の加水分解を抑制することが示された。