

## 生体エネルギー変換の原理 — $H^+$ -ATPase の機構 —

名大・理 深沢直子・垣谷俊昭

(1986年3月31日受理)

近年の生命科学隆盛の中にあつて、生体エネルギー変換の諸々の装置の動作機構について統一的解明が進み、今や物理化学の問題として語られるに至った。本稿では、その中心的役割を担う  $H^+$ -ATPase の機構について、歴史的概観を交えながら、現在の、この分野の研究の動向を紹介する。

### §1. はじめに

生命体の活動の基礎になるエネルギー変換機構は普遍的である。植物の場合には、葉緑体(クロロプラスト)に於て、可視光を吸収し、電荷分離と電子伝達系を経て、生体膜を隔てたプロトン  $H^+$  の電気化学的ポテンシャル  $\Delta\mu_{H^+}$  を形成する(光リン酸化と呼ばれる)。動物の場合には、栄養物を消化して高還元体 NADH を作り、ミトコンドリアの電子伝達鎖を通じて電子を運び、やはり生体膜を隔てた  $H^+$  の電気化学的ポテンシャルを形成する(酸化リン酸化と呼ばれる)。この電気化学的ポテンシャルは、葉緑体やミトコンドリアのような有機体(オルガネラと呼ばれ、数ミクロン~数十ミクロンの大きさをもつ)の全体に広がっており、有機体の任意の膜表面でこのエネルギーを汲み出すことができる。エネルギーの注入部分(電子伝達系)と全く離れた部位にエネルギーを汲み出す部分があり、それが複合酵素  $H^+$ -ATPase である。 $H^+$ -ATPase は  $H^+$  の電気化学的ポテンシャルを利用して、



の反応を行う。ここで、ADP, ATP,  $P_i$  はアデノシン・二リン酸, アデノシン・三リン酸, 無機リン酸の省略語である。それらの分子構造を図1に示す。(1式の反応は吸熱型であり、約 8 kcal/mol のエネルギー蓄積が行われる。ATP は生体内の広範囲な細胞組織に運ばれ、エネルギー要求反応と共役して、ATP は分解し、能動輸送や運動等の組織が要求する仕事を行う。このように、酵素系を介して任意の能動性反応と共役することができるので、ATP は生体内

の貨幣であるといわれる。しかしながら、 $H^+$ -ATPaseの研究には激しい論争の歴史がある。そして、ごく最近に於ては、再び、新しい遺伝子操作等の技術を駆使したためさまざまな研究の進展がみられる。<sup>1,2)</sup> 本稿では、これら生物物理の一舞台として繰りひろげられるドラマについて紹介し、物理化学的な問題の提起としたい。

## §2. Mitchellの化学浸透圧説

上に述べたように、 $H^+$ -ATPaseの触媒するATP合成の駆動力が $\Delta\mu_{H^+}$ であることは、1961年、Mitchellによって、化学浸透圧説として理論的に予言されたことにはじまる。当時の学会では、酸化的リン酸化に主な関心があり、食物の消化（酸化）にともない高エネルギー中間体が生成し、それがATP合成に利用されるという化学説が有力であった。彼の説は学会で受け入れられず、遂に大学を去り、私費でGlynn研究所を設立し、秘書を一人置いて研究を続けるなど、厳しい試練を受けた。その後、化学説と化学浸透圧説の間で激しい論争が戦わされたが、1972年、リン脂質にATPaseをうめこんだ小胞（リポゾーム）を用いた系で、 $\Delta\mu_{H^+}$ を与えることによってATP合成が認められ、化学浸透圧説が実証されるに至った。Mitchellは1978年度ノーベル化学賞を贈られ、最終的に世界の研究者は、彼の労苦に報いることを辞さなかった。彼の業績は、すべての生命体に普遍的な、生体エネルギー変換の物理化学的原理を明らかにしたことであり、これはWatsonとCrickがDNA二重らせんを提唱することによって生命の遺伝のしくみが物理化学的に語られることを可能にしたのと匹敵する程の大事件なのである。すなわち、DNA二重らせん構造が現代生物学の遺伝に関するセントラル・ドグマとして位置付けられているのと同様に、化学浸透圧機構は生体エネルギー変換の中心原理として位置づけられるべきものである（生命現象の必須機能は、遺伝情報とその発現により個体の継承をはかること、生体エネルギー変換により食物から生体運動、代謝に必要なエネルギーを獲得すること、そして、感覚器を用いて外界刺激に対する情報変換を行うこと、の3つに大別できる）。今になってみれば、ATP合成は生体膜を介してしか行われないので、膜の境界を利用した化学浸透圧説はまことに妥当なものと言わざるを得ない。ところで、膜を介してプロトンの濃度勾配（ $\Delta pH$ ）ができると膜電位差（ $\Delta\phi$ ）も形成する。先に述べた電気化学的ポテンシャル $\Delta\mu_{H^+}$ は $\Delta pH$ と $\Delta\phi$ の和を表す。当初のMitchellの化学

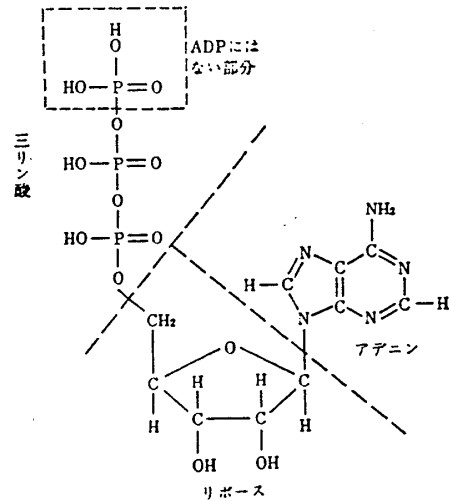


図1 アデノシン三リン酸 (ATP) の分子構造

浸透圧説はこのうち $\Delta pH$ のみを述べていたが、現在では $\Delta\mu_{H^+}$ が正しい有効エネルギーであることが認められている。例えば、ミトコンドリアでは主に $\Delta\phi$ が大きく、 $\Delta pH \approx 0$ であるのに対し、葉緑体では主に $\Delta pH$ が大きい。(このような違いが起こるのは、他のイオンの膜透過および膜の緩衝能の違いによる。) Mitchell は、後で述べるように、ATPaseの具体的な反応機構をも提出していたが、これらは現在では誤りであると信じられている。このように、Mitchellの全部の仕事が正しかったわけではないが、生化学者が思いもつかない驚異的な作業仮説を提出し、その根本をなす考え方が正しかったということで十分評価されているのである。

### §3. $H^+$ -ATPaseの構造

ミトコンドリアの $H^+$ -ATPaseを単離し、分解し、再構成する生化学的研究から、この複合酵素は、機能的に異なる2つの部分 $F_0$ と $F_1$ から成ることが明らかになった(葉緑体の $H^+$ -ATPaseも同様の2つの機能部分から成り、 $CF_0$ 、 $CF_1$ と呼ばれる。好熱菌では $TF_0$ 、 $TF_1$ と呼ばれる)。  $F_0$ は疎水性残基を多く含み膜に埋もれていて、それにノブのような形の $F_1$ が結合している(図2)。その場所と方向は、葉緑体では内部のチラコイド膜上、外側に向かっており、ミトコンドリアや細菌では形質膜上、内側に向かっていて、 $F_1$ と切り離れた $F_0$ のみを再編成小胞に入れると、 $\Delta\mu_{H^+}$ の方向に従った受動的な $H^+$ 輸送が行われることが明らかにされており、 $F_0$ は $H^+$ 輸送路であることがわかる。これに $F_1$ を再結合させると、ATPの水解と $\Delta\mu_{H^+}$ に逆った $H^+$ の能動輸送が行われる。また、精製した $F_1$ にはATPase活性がある。よって、 $F_1$ はATP合成・分解の触媒を行う。 $F_0$ は、大腸菌(E. Coli)の場合、a, b, cの3種(真核生物ではもっと多い)のサブユニットで構成され、a, b, cのどれも $H^+$ 輸送活性には欠かせない。 $F_1$ は $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ の5種のサブユニットから構成され、大腸菌などではそのうち $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ を用いた再構成複合体でATPase活性がみられる。

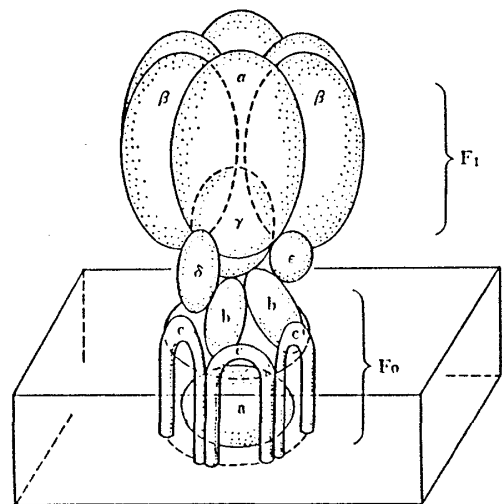


図2  $F_0F_1$ の構造の模式図。 $F_0$ はブロックで示された膜の中に存在する。(吉田・香川(1984), 文献2より転載)。

ATPが $F_1$ のどこに結合し、触媒されるかについては、現在かなり明らかになってきている。単離された $\alpha$ および $\beta$ サブユニットは各々1個のアデニンヌクレオチドと結合する。他の

サブユニットには結合能がない。よって、ATPは $\alpha$ と $\beta$ あるいはどちらかに結合して触媒される。そして、このことと $F_0F_1$ の構造などから、 $F_1$ 上のATP結合部位は6個かそれ以下であることが結論された。例えばウシ心筋やE. Coliの $F_1$ について、6分子のアデニンヌクレオチド、あるいは、その類似化合物の結合が確認されたが、酵素の場合最大4個、好熱菌では3~4個である。結合部位のうちで親和性が低かったり解離の速度が速かったりして、測定の際に、はずれているものがあるとも考えられる。

結合部位が6個として、そのうち、3個は noncatalytic (非触媒) な部位である。つまり $F_1$ を精製したときでもADPあるいはATPを結合していて (tightly bound ヌクレオチド) 溶液中のヌクレオチドと交換しない。残りの3個が catalytic (触媒) 部位であると考えられている。すなわち溶液中の外から加えたADPやATPを結合する (loosely bound ヌクレオチド)。 $\alpha$ と $\beta$ のサブユニットのうちどちらが catalytic でどちらが non-catalytic かということについては、化学修飾による研究の結果などから、catalytic な部位は $\beta$ サブユニットにあると考えられる。

また、構造面からのアプローチも進んでいる。最近の遺伝子操作の技術の応用によって、 $F_0F_1$ のDNA配列が決定され、それから、蛋白のアミノ酸配列が求められた。<sup>3</sup> 例えば、 $F_1$ の一次構造を生物種間で比べてみると、 $\beta$ サブユニットは、細菌、ウシ・ミトコンドリア、葉緑体などいずれにおいても、互いに70%ものアミノ酸配列が同一で、他のサブユニットに比べて高い相同性があることがわかった。また、 $\beta$ サブユニットの二次構造に関する研究から、 $\alpha$ ヘリックスと $\beta$ シートの繰り返しであるRossmann構造 (Rossmann 褶曲ともいう) が見られ、その領域に、多くの種間で共通性を持つ構造が含まれていることが明らかになった。このRossmann構造というのは、脱水素酵素や還元酵素などにおいて、FAD, NADP, NADなどのアデノシン部分の結合部位として機能していると考えられている構造であり、この付近がATP結合部位の、少なくとも、一部になっている可能性がある。事実、8アジドATPが $\beta$ サブユニットのRossmann 褶曲に結合することが証明された。だが一方、 $3^1$ アリル-8アジドATPを用いると $\alpha$ と $\beta$ のサブユニットに架橋されることから、結合部位は $\alpha$ と $\beta$ の界面とも思われる。この架橋産物をアルカリ水解すると、 $\beta$ 側にアデニン核が結合している。いずれにしても、ATPaseの基本的な仕組みはどの生物でもあまり変わらないと思われるので、Rossmann 褶曲付近がATPase活性を担う結合部位と考えてよさそうである。

#### §4. $\Delta\mu_{H^+}$ の役割

$\Delta\mu_{H^+}$ がATP合成においてどのような役割を果たすかについて具体的な反応機構がいろいろ提案されてきた。Mitchell は、触媒部位におけるADPのエステル化に $H^+$ が直接関与している、

つまり、 $\Delta\mu_{H^+}$ によってベクトル的に $F_0$ を通して押し流されてきた2つの $H^+$ が、無機リン酸 $P_i$ の酸素原子の1つに作用して、これが水となって分離し、非常に反応性に富んだ化学種が残り、ADPと反応してATPになる、という直接機構説を提出した。一方、Boyerはミトコンドリア等における酸化還元の際に、タンパク質のコンフォメーション変化が起こり得るという実験的研究をずっと行ってきた。そこで彼は、 $F_0F_1$ において、(1) $\Delta\mu_{H^+}$ は $F_1$ のコンフォメーション変化を引き起こす役割を果たすこと、(2)このコンフォメーション変化によってADPとATPに対する $F_1$ の比親和力が変化し、ATP合成が起こること、そして、(3)ATP合成よりも、むしろ、触媒部位に結合したATPを解離するのにエネルギーが必要なことなどを提唱した。<sup>4</sup>この機構は間接説あるいは“binding change”説と呼ばれる。プロトンの解離・結合によってコンフォメーション変化が起こる例としては、後で述べるヘモグロビンの例がある。また、筋肉収縮の場合に、アクチンとミオシンの接触によってATP分解が起こるが、ATPがミオシンに結合するとき、既に大きなGibbs自由エネルギーの変化があり、ミオシンタンパク質が大きなコンフォメーション変化を起こす。そして、この結合ATPの分解には非常に小さなGibbs自由エネルギーしか要しないという機構が考えられている。葉緑体の $F_0F_1$ においては、N-エチルマレイミドを $CF_1$ の $\gamma$ -サブユニットへ結合させるとき、光を照射して $\Delta\mu_{H^+}$ が増大するとその結合定数が増大し、ATP合成能に影響を与えることが示された。このことは、 $\Delta\mu_{H^+}$ により、 $CF_1$ のコンフォメーション変化が起こることを示唆している。ミトコンドリアの $F_1$ でも、阻害剤の蛍光変化の実験から上記コンフォメーション変化が推論されてきた。更に、ごく最近、 $F_1$ に結合させたADPと $P_i$ が $\Delta\mu_{H^+}$ なしでもATPになることが明らかになったことにより、Mitchellの直接機構説に対してBoyerのbinding change説が優位になった。この実験は、<sup>5</sup>葉緑体、ウシ心筋ミトコンドリア、好熱菌の3種の $F_1$ について行われたが、いずれもpH6~7の微酸性領域でATP合成が見られ、しかも合成されたATPは $F_1$ に結合したまま離れてこなかった。このことから $H^+$ の流れが直接ATP合成に関与している可能性はほぼなくなり、ATP合成よりもATPの $F_1$ からの解離に $\Delta\mu_{H^+}$ が必要であるというBoyerの考え方が支持された。しかし、膜を介してプロトンの流れがATP解離とどのように共役しているのかは、まだ、明らかになっていない。このような目的で、ATPの結合した $F_1$ はリポソーム膜に埋めこんだ $F_0$ に結合させて、 $\Delta\mu_{H^+}$ を与えたとき、ATPが解離するかどうかを実験的に明らかにするのは今後の興味ある問題である。

## §5. ATP合成反応の協力現象

$F_0F_1$ の機構を考える上でもう1つ重要なこととして、catalytic部位間の強力な協同性があ

る。先に述べたように、 $F_1$ には3つの catalytic 部位があるが、この3つは等価にそれぞれ別々に反応を行うのではなく、どれか1つ、あるいは、2つにATP又はADPが結合している場合、そして、1つも結合していない場合では、空いている部位のATPに対する親和性及び加水分解速度がまるで違うことが、最近明らかにされた。すなわち、単離した $F_1$ はATP合成と共にATP分解反応を触媒する。Penefsky らの実験によると、<sup>6</sup>溶液中のATPの濃度を低くして、 $F_1$ に対して1個目のATPが結合する場合、その結合力は非常に強いがATP加水分解のturn overは非常に遅い。濃度を上げて2個目のATPが結合するとき、その結合力は1個目の時より1,000万分の1の弱さだが、逆にATP分解のturn over速度は100万倍以上も速くなる。

表1.  $F_1$ の1~3番目の基質部位のATPに対する親和性とATP加水分解のturn over速度

ATP結合数	$K_m$ (M)	$V_{max}$ ( $s^{-1}$ )
1	$1 \times 10^{-12}$	$10^{-4}$
2	$3 \times 10^{-5}$	400
3	$1.5 \times 10^{-4}$	600

(表1参照)。ところで、ATPの分解反応は次のステップで起こると考えられている。



ここで、 $ATP \cdot F_1$ は $F_1$ に結合したATPの状態を表す。他も同様である。先に述べたATP加水分解のturn overが速くなる機構は、他の実験等から、次のごとくであることが明らかにされている。すなわち、 $F_1$ に結合した状態でATPが分解する③のステップの反応速度はあらゆる場合に非常に速く、むしろ、結合したADPと $P_i$ が $F_1$ から離れていく⑤のステップが律速である。すなわち、ATPが1つしか結合部位にないときは、⑤の反応速度が極端に小さく、他の部位にもATPが結合すれば、⑤の反応速度が100万倍以上も速くなるのである。更に、③と④の平衡はほぼ1:1で成り立ち、 $F_1$ に結合した状態でのATPの分解では、エネルギーが変化しない。多分、 $ADP \cdot F_1 \cdot P_i$ の $F_1$ 構造が、 $ATP \cdot F_1$ の $F_1$ 構造より高エネルギー状態にあるためであろう。

§6.  $F_0F_1$  の反応機構— Alternating three-site モデル

$H^+$ -ATPase  $F_0F_1$  の機構について、様々な方法によるアプローチが行われ、今まで述べたことの他にも、いろいろなことが明らかになってきているが、 $H^+$  輸送はどこでどのように行われているか、それとATP合成・分解はどう結びついているのか、という問題の核心については、まだ、決定的な解答はなく、可能性を示唆したり、可能性をしばらくこんだりという段階のものが多い。その中でも、明らかになった事実をもとに、いくつかのモデルが提出されている。前に述べた Boyer は、binding change 説を出してから、<sup>18</sup> O の交換反応の速度論に基づいてモデルの変更を重ねてきた。最近の彼の alternating three-site モデルにおいては、<sup>7</sup> 3つの触媒部位間に強力な協力性が見られることを重要視し、この協力性はもともと役割分担するように異なる部位が3つあるのではなく、もともと全く同じ部位が3つの異なるコンフォーメーションにそれぞれ変化しているのだと主張している。そして、そのコンフォーメーションの1つ ( $\beta'$ ) はATPの結合・解離を、2つめ ( $\beta^*$ ) はATPの合成・分解のそれに伴う結合位置の変化を、3つめはADPと  $P_i$  の結合・解離を行うコンフォーメーションで ( $\beta$ ) (図3参照)、触媒部位はこの3つのコンフォーメーションを順々に通りながら状態が遷移している。図3において、ATP合成は右回り(時計方向)、分解は左回り(反時計方向)である。また、この状態遷移には  $F_1$  の他のサブユニットも関与していることが考えられ、中心部にある  $r$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ , そしておそらく  $\alpha$  サブユニットも、この回転をコントロールする役割を果たしているであろう。

Boyer のモデルの基本となるのは、前に述べたように  $\Delta\mu_{H^+}$  によるタンパク質のコンフォーメーション変化である。この変化が実際に起こっていて、ATP合成となんらかの関りを持っているらしいことは状況的にわかっているが、では、 $\Delta\mu_{H^+}$  によるコンフォーメーション変化はどのようにして起こるかについて具体的なモデルないしはイメージを与え

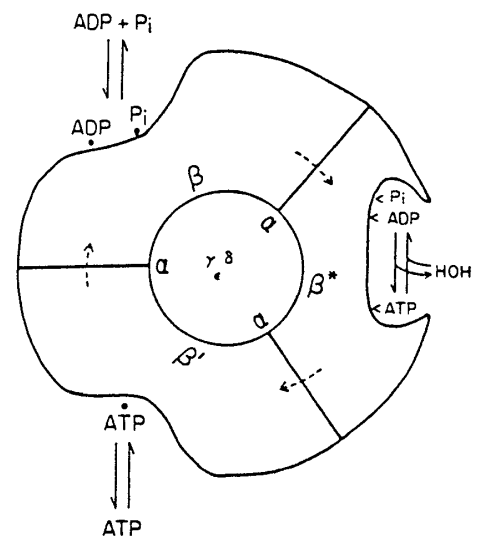


図3. Boyerらの alternating three-site モデルの模式図。  
 $\beta$ -サブユニットは3つの状態(コンフォーメーション)  $\beta$ ,  $\beta^*$ ,  $\beta'$  をとることが出来、それぞれ、ADPと  $P_i$  の結合・解離、 $P_i$  とADPの合成、ATPの結合・解離の働きをすることができる。3つのサブユニット  $\alpha$  およびサブユニット  $r$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$  は  $H^+$ -電気化学ポテンシャルおよびATP, ADP,  $P_i$  等の濃度に応じて  $\beta$  の3つの状態間の遷移を制御している。 $\beta$  の状態変化が時計方向回りのときATPを合成し、反時計回りのときATPを分解する。(Gresserら(1982), 文献7より転載)。

ていない。次に述べる Kagawa の酸・塩基クラスター仮説は、 $4\mu\text{H}^+$ によるコンフォーメーション変化についての具体的なモデルである。

### §7. 酸・塩基クラスター仮説

ATPを1個つくるのに $\text{H}^+$ はいくつ必要か、ということは、だいぶ以前から問題になってきたが、はっきりした値の得られぬままに、少し前までは2個と言われてきた。最近では3個という説が有力なようである。Kagawaは $3\text{H}^+/\text{ATP}$ を満たす、すなわち $\text{F}_0$ から同時に3個の $\text{H}^+$ を受けとることができるためには、それぞれ3個以上の酸性基、塩酸基がかたまっている必要があると考えた。そして実際、大腸菌の $\beta$ -サブユニットのRossmann褶曲の近くに酸性アミノ酸残基がかたまっている部分と塩基性アミノ酸残基がかたまっている部分のあることがわかった。

これらのことに基づいて提出されたKagawaの酸・塩基クラスター仮説によると、 $4\mu\text{H}^+$ によって、中性で $-\text{NH}_3^+$ の形になっている塩基性基から $-\text{COO}^-$ の形の酸性基に3個の $\text{H}^+$ が移され、イオン結合が切断されてRossmann褶曲に大きいコンフォーメーション変化が起こり、ATPが解離されると考えられている(図4参照)。残基間の $\text{H}^+$ の移動によってコンフォーメーション変化が起こり、それがATP解離に結びつくという直接の証拠はないが、同じような例として、ヘモグロビンにおいて、酸・塩基クラスター構造に $\text{H}^+$ が結合されると、コンフォーメーション変化が起こって、離れた活性中心に結合した $\text{O}_2$ が解離することがX線回折で確認されている。また、 $\text{H}^+$ を送る $\text{F}_0$ の $\beta$ サブユニットにも酸・塩基クラスターがあり、これを特異的に除去すると

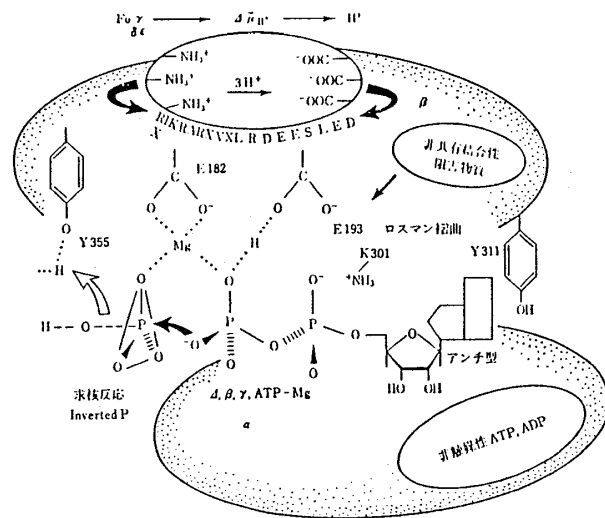


図4.  $\text{F}_0\text{F}_1$ におけるATP合成の酸・塩基クラスター仮説。

$\beta$ -サブユニットを上部に、 $\alpha$ -サブユニットを下部に示す。ATPが合成される時、通常 $\text{Mg}^{2+}$ が1つ結合する。ATP- $\text{Mg}^{2+}$ の位置は $\alpha$ と $\beta$ の界面の $\beta$ 側のRossmann褶曲上である。PおよびOについて同位元素置換した実験結果から、次の反応機構が予想される。ADPのO原子が図のように無機リン酸のPに求核反応を行い、Y355(チロシン残基)のHは一般酸触媒として働き、Oを除く。ATPを $\text{F}_1$ から解離させるエネルギーは、 $\beta$ -サブユニットの酸・塩基クラスターに $4\mu\text{H}^+$ が集中的に作用することによって得られ、その機構は、まず、クラスターのイオン結合を消失させ、 $3\text{H}^+$ が移動したところで十分な高次構造変化を起こし、Rossmann褶曲に伝えられるといったものであろう。(吉田・香川(1984), 文献2より転載)



ATPによる $H^+$ の能動輸送能は失われ、 $F_0$ の $H^+$ の受動的輸送能や $F_1$ の結合能は失われないことから、酸・塩基クラスターが $H^+$ 輸送とATPの結合・解離の共役に関する可能性が示される。その他アセチルコリン輸送体や $Na^+$ チャンネルにも酸・塩基クラスターが見出されていること、 $F_1$ や $F_0$ のbサブユニットの酸・塩基クラスターの変異によって $H^+$ 輸送に異常が見られることなど、この説を支持する事実も多い。

### §8. 回転モデルによるルース・カップリング説

先に、ATP 1分子生成に要する $H^+$ の数は2又は3個としたが、このような関係をタイト・カップリングと呼ぶ。化学当量に当る考え方である。ところが、よく考えてみると、何だか変だなど感じる。それは、 $\Delta\mu_{H^+}$ のエネルギーを用いて $H^+$ の流れが作られるのだから、 $\Delta\mu_{H^+}$ が大きいときは、 $H^+$ の流れが速く、 $\Delta\mu_{H^+}$ の値が小さいときは遅いはずである。 $\Delta\mu_{H^+}$ の値により、 $H^+$ により運ばれるエネルギーも異なるはずである。従って、 $\Delta\mu_{H^+}$ の値に無関係に、ATP 1分子生成に要する $H^+$ の数が決まるのは不合理に思われる。実際、 $\Delta\mu_{H^+}$ が極端に小さくなったときもATPは作られ続けるのだろうかという疑問は正統であろう。同様な問題は $\Delta\mu_{H^+}$ を直接のエネルギー源とするバクテリア鞭毛モーターの回転についてもあてはまる。このような状況に対して、Oosawaはルース・カップリング説を提唱した。<sup>9</sup>すなわち、入力と出力の比、ATP合成の場合には流入する $H^+$ と合成されるATPの比は整数である必要はなく、その値は、条件で変わりうることを提唱した。Oosawa

のルース・カップリング説は、はじめ、筋肉の収縮やバクテリア鞭毛モーターについての種々のエネルギー論的考察の結果導かれたものであるが、具体的なモデルとしてはバクテリア鞭毛および $H^+$ -ATPaseの回転モデルとして結実した。

この回転モデルによると、 $\Delta\mu_{H^+}$ をATPの化学エネルギーへの変換には次の2段階のルース・カップリングの機構を接続させる。まず、第1段階では、 $\Delta\mu_{H^+}$ のエネルギーを用いて、 $F_0$ 内の構造物の回転運動を行わせる。 $F_0$

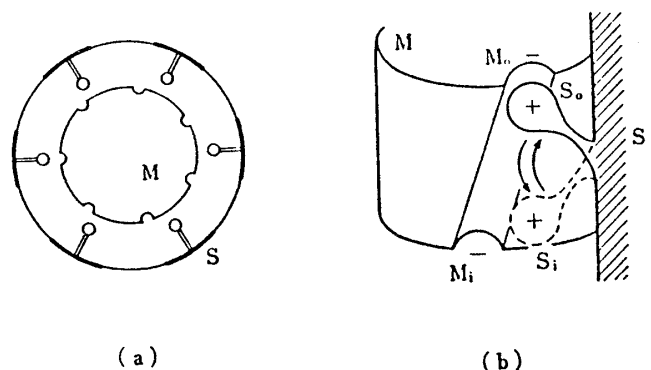


図5. (a)回転モデルにおける $F_0$ の予想される構造。十数個のサブユニットcが外筒Sを作る。Sはプロトンを吸脱着できるいくつかの手を持つ。2個のサブユニットbは内筒Mを作る。内筒の外側では、斜めに走る溝があり、Sの手ははまりこむことができる。(b)回転モデルにおけるルース・カップリング機構。Sから出る手は2つの位置 $S_0$ と $S_1$ の間を $\Delta\mu_{H^+}$ の駆動力に応じて往復運動する。手Sは溝Mに沿って動くことができるが、溝にはまらない確率もあるとする。(大沢(1985), 文献9より転載)。

の構造的解析により、十数個のサブユニット  $c$  が膜中に膜に垂直な円筒型をつくり、円筒の中心部に2個のサブユニット  $b$  があると推定されている。そこで、 $c$  がつくる円筒を外筒  $S$ 、中心部の  $b$  を内筒  $M$  として、 $S$  からはいくつもの手が出ていて、 $M$  には斜めに溝があると考える（図2、図5(a), (b)参照）。 $S$  の手は上の位置  $S_0$  で膜の外の  $H^+$  を受けとり、 $\Delta\mu_{H^+}$  に従って下に、すなわち、 $F_1$  の方へ引っぱられ、下の位置  $S_2$  で  $H^+$  を放す。このとき手は溝  $M$  に結合し、手が  $S_0$  にもどるときも溝にはまったまま動くと、外筒  $S$  に対して内筒は回転する。手と溝は多数あり、それらが次々に順序よく相互作用すると、円筒は連続的に回転する。ルース・カップリング機構を導入するために、手は必ずしも内筒の回転を伴わないでも上下できる確率を与える。また、手の  $H^+$  との結合・解離、溝  $M$  との結合・解離は非常に速く ( $10^4 \text{ s}^{-1}$  以上)、手の上下運動は次に速く ( $10^3 \sim 10^4 \text{ s}^{-1}$ )、内筒の回転は遅い ( $10^2 \text{ s}^{-1}$  程度) とする。円筒は手とのかみ合わせのルースさ、そして手の動きに対する各種結合解離の速度差から、円筒は、1つ1つの手の動きによって揺らぐことなく、平均的なトルク（回転力）の総和によって一方向にスムーズに回る。

内筒  $M$ 、すなわちサブユニット  $b$  の回転は  $F_1$  のサブユニット  $r$  に伝えられる。そして第二段階として、 $F_1$  における  $r$  の回転による  $\alpha$ 、 $\beta$  サブユニット上でのATP合成が行われる。 $\beta$  サブユニットには3つの異なるコンフォメーション、つまりATPの結合・解離に都合のよいA、ATPの合成・分解反応に都合のよいB、ADPの結合・解離に都合のよいCがあるとし、 $\beta$  のつくる円筒の中心にある  $r$  サブユニットには、表面に  $\beta$  の3つのコンフォメーションと親和性のある  $A'$ 、 $B'$ 、 $C'$  部位があるとする（図6参照）。

そのため、3つの  $\beta$  サブユニットには含まれて、 $r$  サブユニットが回転すると、 $\beta$  サブユニットは順次A、B、C又はC、B、Aのコンフォメーションをとりやすくなり、ATPの合成分解が行われる。逆に、1つの  $\beta$  サブユニットがコンフォメーションを順次変えると、 $r$  サブユニットを回転させるトルクを生じることも可能で、これは、ATP分解による  $\Delta\mu_{H^+}$  形成に対応する。第二段階も第一段階と同様、ATPやADPの結合・解離や合成・分解の速度に比べて  $\beta$  のコンフォメーションのゆらぎが遅く、更に  $r$  の回転が遅いという速度差を与えることにより、ルース・カップリングになっている。

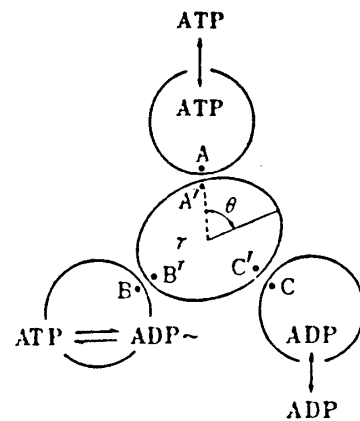


図 6

## §9. 終わりに

以上、 $H^+$ -ATPase ( $F_0F_1$ ) の機構について述べてきたが、まだ、はっきりしていないことが多く、現在、X線結晶解析、遺伝子変異分析、その他、多くの物理・化学的方法によって様々な方向からのアプローチが精力的に進められている。この3、4年間に、次々と新しい事実が明らかになり、大きな進展が見られた。その中で、特に、 $F_1$  によるATP加水分解反応に異常とも見える大きな協力現象が発見された意義は大きい。現在はまだ、その意味するところを十分解明できていないが、 $H^+$ の流れと $\beta$ サブユニットのコンフォメーション変化との関連で、その機構が明らかにされる予感がする。そして、このこととOosawaの回転モデルがどのように関連しうるか興味のあるところである。また、反応機構に関するモデルもさることながら、エネルギー論的な研究も重要性を増し、非平衡統計力学との接点も生まれてこよう。

著者の1人(T.K.)が物性研究20周年記念特集「これからの物性物理」の中で「1つの方向としての化学物理」をあげ、ATPaseの機構研究がその段階に来ていることを述べた。<sup>10</sup> 本稿は、その現状を詳しく紹介したもので、少しでもこの分野に興味を持っていただければ幸いです。

## 参 考 文 献

- 1) 化学浸透圧説をもとに $H^+$ -ATPaseを解説したものとしては、「生体膜と生体エネルギー」(1984) D.G.ニコルズ著、西崎友一郎訳、培風館。  
「生体膜と生体エネルギー」第3版(1985) 香川靖雄著、東京大学出版会。
- 2)  $H^+$ -ATPaseの最近の進歩について解説したものとしては、「蛋白質 核酸 酵素」(1982) vol. 27. No. 8 ; (1984) vol. 27, No. 8。
- 3) M. Futai and H. Kanazawa, *Microbiol. Rev.* **47** (1983) 285.
- 4) G. Rosen, M. Greesen, C. Vinklen and P. D. Boyer, *J. Biol. Chem.* **254** (1979) 10654.
- 5) J. Sakamoto and Y. Tonomura, *J. Biochem.* **93** (1983) 1601; M. Yoshida, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **114** (1983) 907; R. Feldman and D. S. Sigman, *J. Biol. Chem.* **257** (1982) 1676.
- 6) R. L. Cross, C. Grubmeyer and H. S. Penefsky, *J. Biol. Chem.* **257** (1982) 12101.
- 7) M. J. Gresser, J. A. Myers and P. D. Boyer, *J. Biol. Chem.* **257** (1982) 12030.
- 8) Y. Kagawa, *J. Biochem.* **95** (1984) 295.
- 9) F. Oosawa and S. Hayashi, *J. Phys. Soc. Jpn.* **53** (1984) 1575.  
大沢文夫, 蛋白質・核酸・酵素, 別冊28「生物機能と時間」(1985) 2。
- 10) 垣谷俊昭, 物性研究 **41** (1983) 62。