

Title	X線溶液散乱法によるATP加水分解サイクルに伴ったミオシンモータードメインの構造解析
Author(s)	杉本, 泰伸
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	https://doi.org/10.11501/3129141
DOI	10.11501/3129141
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	すぎもと やす のぶ 杉 本 泰 伸
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学位記番号	第 1 3 2 4 2 号
学位授与年月日	平成 9 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 基礎工学 研究科 物理系 専攻
学位論文名	X線溶液散乱法によるATP加水分解サイクルに伴った ミオシンモータードメインの構造解析
論文審査委員	(主査) 教授 柳田 敏雄 (副査) 教授 葛西 道生 教授 村上富士夫 助教授 若林 克三

論 文 内 容 の 要 旨

X線溶液散乱法によって筋肉のエネルギートランスデューサー、ミオシン頭部（サブフラグメント-1 : S1）がATP加水分解中にグローバルな構造変化を起こしていることを明らかにした。構造変化をATP加水分解サイクルと対応させると、S1はヌクレオチドと結合していない状態で最も大きな慣性半径を持ち、 $S1 \cdot ADP \cdot Pi$ (Pi :リン酸)の化学状態にあるときに最もコンパクトになるような構造をもつ。 Pi を放出した $S1 \cdot ADP$ の状態ではこれらの中間的な構造をとっていることが明らかとなった。また、リン酸アナログを用いた実験では、 $S1 \cdot ADP \cdot Vi$ (Vi :バナジン酸)、 $S1 \cdot ADP \cdot BeF_3$ 、 $S1 \cdot ADP \cdot AlF_4$ のどれもがATP中のS1、すなわち $S1 \cdot ADP \cdot Pi$ と同様の構造をとることが分かった。このことはこれらアナログと結合したS1はATP加水分解中の最も優勢な中間体の良い構造アナログにもなっていることを示す。

詳細な構造変化を明らかにするために、S1の結晶構造解析による原子座標をもとにしたモデル計算を行った。そのために、まず、ミオシン頭部の構造を複数のドメインに分割し、それぞれのドメイン間のつながりを保ったまま相対的な位置関係を変化させるようにすることで、分子のグローバルな構造変化を表現することができた。この時、各ドメイン内の構造は変化させなかった。このようなドメイン化分子モデルについて散乱強度曲線を計算し、実験値と比較することで最適なモデルを探索した。ミオシン頭部を残基番号でそれぞれ1-204、216-464、465-626、647-710、711-843の5つのドメインに分割した。軽鎖は最後のドメインに含めて扱った。ATP加水分解中のミオシン頭部と、ADPと結合したミオシン頭部について行った解析の結果は以下の通りである。まずATP加水分解中の構造モデルにおいて、最も顕著な構造変化が見られたのは710/711の残基間である。この部分での変化は結果として軽鎖結合ドメインを動かすことになり、その末端での動きの大きさは約50Åであった。電子顕微鏡によるアクチン・ミオシン複合体の三次元再構成に基づいた原子モデルと同様の方向に分子を配置させると、この末端部分の動きには軸方向と繊維軸に垂直な面内の動きの両方が含まれていることが分かった。また、頭部ドメインにあるATP結合部位やアクチン結合部位の構造変化が小さいことが予測された。一方、ADP結合時のS1構造モデルは、ATP加水分解中のモデルと比べた場合、710/711残基部分でのみ違っているという結果が得られた。すなわち、頭部ドメインの構造はATP中のモデルと同等であるが、軽鎖結合ドメインの構造変化は小さくて、約30Å程度の動きとなった。この場合も軸方向の動きと繊維軸に垂直な面内の動きの両方が含まれていたが、軸方向の動きはATP中のものと比べて半分ぐらいであった。

論文審査の結果の要旨

本論文は筋肉のエネルギー変換を担うミオシン頭部がATP加水分解中にグローバルな構造変化を起こしていることをX線溶液散乱法によって示し、結晶構造に基づいてその構造変化を具体的に解析し、さらに分子構造の変化とATP加水分解素反応との関連を考察したものである。

第1章は本研究の出発点になった研究の背景と研究方法の有効性を述べている。第2章は実験で使われた試料の調製法、X線溶液散乱法、データの解析法が述べられている。第3章では、X線溶液散乱法によってミオシン頭部のATP加水分解中の構造変化が、小角散乱のギニエ近似から分子の慣性半径の変化、あるいは強度分布のフーリエ変換による距離分布関数から分子最大長、分子内ベクトル分布の変化として明確に示されている。さらに、ATP加水分解反応の素過程に対応するアナログを使った研究によってATP存在下での大きな構造変化が、ATPを分解しその産物であるADPとリン酸(Pi)を分子内に保持した化学状態(M.ADP.Pi)で起こっていて、その後リン酸とADPを放出した化学状態では元の構造に戻るような変化を起こしていることを明らかにしている。このようにミオシン頭部が単独でATPを加水分解しているときは化学反応の素過程と構造変化が1:1的に共役している可能性を指摘している。第4章では溶液散乱で得られたミオシン頭部の構造変化がこの蛋白の結晶解析による原子座標を使ったモデル計算によって具体的に解析されている。ATP加水分解中の変化としては主に分子中央付近にある710/711アミノ酸残基が回転軸となるように運動を起こし、その結果分子の軽鎖結合ドメインの末端を分子の長軸と垂直な方向に約45 Å、長軸を含む面内で約20 Å動くような変化になっていることを示している。またリン酸を放出した状態(ADP結合状態)では分子末端の動きは長軸を含む面内ではATP中と同じ位であったが、長軸と垂直な方向の動きは半分位であることを示している。このような原子座標を使っての分子全体の構造変化を解析するアルゴリズムも提案されている。第5章では実験結果と解析結果に基づいてミオシン頭部がATP加水分解中に起こす構造変化とATP加水分解反応サイクルの素過程(化学状態)との共役性を議論している。

以上のように、本論文は筋肉のエネルギートランスデューサーであるミオシン頭部がATP加水分解中かなり大きな構造変化を起こしていることをX線溶液散乱で明らかにし、原子座標を使って具体的に分子のドメイン構造の変化として解析した初めての例で、学位論文として価値のあるものとして認める。