

Title	Cooperative Catalysis of Escherichia coli F1-ATFase : Roles of $\beta$ Glu-185 and $\alpha$ Arg-376 Residues
Author(s)	Le, Fhi Nga
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/42515">https://hdl.handle.net/11094/42515</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名	れ Le,	ふい Fhi	な Nga
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)		
学位記番号	第 15991 号		
学位授与年月日	平成13年3月23日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科生物科学専攻		
学位論文名	Cooperative Catalysis of <i>Escherichia coli</i> $F_1$ -ATPase : Roles of $\beta$ Glu-185 and $\alpha$ Arg-376 Residues (大腸菌 $F_1$ -ATPase の協同的な触媒作用 : $\beta$ Glu-185 と $\alpha$ Arg-376 残基の役割)		
論文審査委員	(主査) 教授 二井 将光		
	(副査) 教授 谷澤 克行    教授 金澤 浩    助教授 和田 洋		

### 論 文 内 容 の 要 旨

ATP 合成酵素 ( $F_0F_1$ ) は膜に形成されたプロトンの電気化学的濃度勾配を駆動力に用いて、生体のエネルギー貨幣である ATP を合成する膜タンパク質である。 $F_0F_1$  は逆反応として ATP を加水分解し、プロトンを輸送することもできる。ATP の触媒反応は、大腸菌の場合 5 種類のサブユニット ( $\alpha_3\beta_3\gamma\delta\epsilon$ ) からなり膜から突き出ている  $F_1$  部分で行われ、膜に内在する  $F_0$  部分 ( $ab_2c_{10-14}$  サブユニット複合体からなる) はプロトンの輸送路を形成する。 $F_1$  の  $\alpha$  および  $\beta$  サブユニットは交互にリング状に並び、触媒部位は 3 ケ所の  $\alpha-\beta$  サブユニットの境界面に存在する。 $F_1$  は ATP の分解活性を保ったまま膜から容易にはずすことができ、高濃度 ATP 存在下 (multi-site catalysis) での分解速度は、低濃度時 (uni-site catalysis) の約 10 万倍になる。これは 3 ケ所の活性中心の間に正の協同性があることを示している。

本研究では、活性中心近傍に位置する 2 つのアミノ酸残基に着目して、 $F_1$  における化学触媒作用の協同性を生化学的に解明した。

$\alpha$  サブユニットの Arg376 を Lys あるいは Ala に置換した  $F_1$  は、uni-site 活性はあるが、multi-site 活性はなくなった。したがって、 $\alpha$  Arg376 は正の協同性に必須であることが明らかになった。さらに、触媒反応モードを uni-site catalysis から multi-site に変えた時の反応物の遊離速度を調べたところ、2 つの変異酵素は、野生型のように速度の上昇が見られなかった。ATP の酵素への結合自体は変異導入によって変化がなかったことから、変異酵素では触媒部位間の協同的な連絡がなくなったため、multi-site モードの活性に著しく影響をあたえていると考えている。 $\alpha$  Arg376 は塩基性残基である Lys に置換できなかったことから、Arg 残基側鎖のグアジニノ基が触媒部位に生じる構造変化を他の部位に伝えるのに重要な役割を持つのであろう。

$\beta$  サブユニットの Glu185 を Asp 以外のすべてのアミノ酸残基に置換した場合、multi-site catalysis の ATP 分解活性は野生型の 0.1% 以下になったが、uni-site catalysis は影響を受けなかった。一方、Asp に置換した変異酵素、および Cys 置換体に S-carboxymethyl 化したものは multi-site catalysis が回復した。これらの結果は、 $\beta$  サブユニットの 185 の位置にあるカルボキシル基が ATP の触媒反応そのものには必須でないが、3 つの活性中心間の協同性に関与していることを示唆する。

以上の研究から、 $F_1$  における触媒作用の協同性をアミノ酸残基レベルで解明することができた。

## 論文審査の結果の要旨

ATP合成酵素 ( $F_0F_1$ ) は膜に形成されたプロトンの電気化学的勾配を駆動力に用いて、生体のエネルギー貨幣である ATP を合成する膜タンパク質である。Le Phi Nga 君は  $F_1$  の重要な性質である化学触媒作用の協同性について独創的な研究を進めた。その結果、活性中心近傍の  $\alpha$  サブユニットの Arg376 が正の協同性に必須であることが明らかになった。さらに、反応時における基質 (ATP) および生成物 (ADP とリン酸) の詳細な定量実験から、Arg376 残基側鎖のグアニノ基が触媒部位に生じる構造変化を他の部位に伝えるのに重要な役割を持つことを発見した。また、同様に  $\beta$  サブユニットの Glu185 残基のカルボキシル基が ATP の触媒反応そのものには必須でないが、3つの活性中心間の協同性に関与していることを見いだした。これらの結果から、 $F_1$  における触媒作用の協同性をアミノ酸残基レベルで考察した。以上の成果は、博士 (理学) の学位論文として十分価値のあるものと認める。