

ESR動的解析法による筋運動スイッチマシナリーと常磁性イオン流モーターの解明



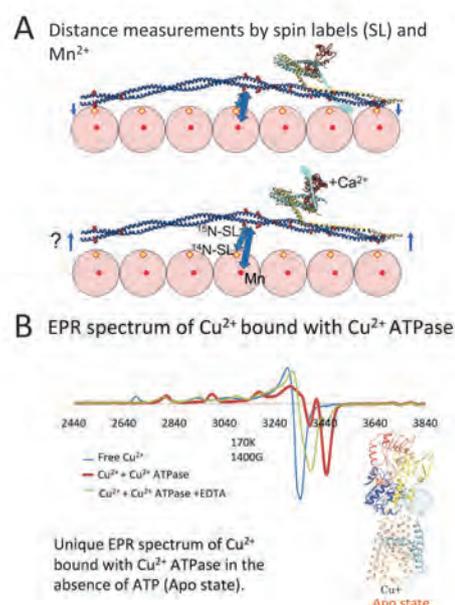
あら 荒 田 とし あき
敏 昭

SDSL-ESRは、常磁性イオンの結合やタンパク質の変異システインに2箇所のスピンラベル(SL)標識することにより、溶液中の分子内アミノ酸側鎖間ならびに分子間の高精度のスピン間距離(0.8-8nm)およびそのダイナミクス(距離分布)の両方を、FRETより短い距離までをorientation factorも考慮せずに計測できる。それによって、タンパク質の立体構造や巨大なマシナリー4次構造のトポロジー、および常磁性イオンの位置を決定することができる。次の2つの研究を行う。

1) 筋肉細いフィラメントのCaスイッチマシナリー 筋肉の細いフィラメントには7個のアクチンあたり1個あるトロポニンへのCa結合によって、トロポニンの大きな構造変化(1)に引きずられて、トロポミオシンが動いて、7個のアクチン全部にミオシンが相互作用できるようになるという仮説があるが、その実体は謎である。トロポミオシンのアミノ酸側鎖のSL運動性はCaによって変化しない(2)。2種の同位体ラベルや常磁性金属-スピンラベルによるdifferential multi-labeling法を開発して距離マップを作成して明らかにする(図A)。2) 常磁性イオン流モーター F1-ATPaseや細菌鞭毛モーターはH⁺やNa⁺イオン流を回転運動に変換する。一方、P型ATPaseは可逆的に重金属をはじめ多種のイオン流出(流入)とATP加水分解(合成)を行い、大きいドメイン構造の変化をとまなう。前者と後者のイオン流と回転・構造変化との間のエネルギー変換には共通

原理があると考えられる。そこで、銅イオン輸送ATPase CopA(図B)と類似のThermus thermophilus TTHA1733 (TiCopB)のアミノ酸をスピンラベル標識し、それと常磁性Cu²⁺(II)の距離をマッピングしATP分解中のイオンの位置を決定することを目指す。CopBに結合したCu²⁺イオンのESRスペクトル取得に成功しており(図B)、さらにATP加水分解中のESR測定を行いCu²⁺イオン結合構造の変化や、スピンラベル距離マップによりタンパク質の動的立体構造を明らかにする計画である。

1. Aihara et al. J. Biol. Chem. (2010)
2. Ueda et al., Biophys. J. 100, (2011)



研究のキーワード：トロポミオシン，銅イオン流ATPase，ESR，距離マップ
研究室HPのURL：http://www.bio.sci.osaka-u.ac.jp/bio_web/lab_page/bioerg/