

## 【解説】

Hirono, M., and Maeshima, M. (2009) Functional enhancement by single-residue substitution of *Streptomyces coelicolor* A3(2) H<sup>+</sup>-translocating pyrophosphatase. *J. Biochem.*, 145, 617–621.

H<sup>+</sup>-Pyrophosphatase (プロトン輸送性ピロホスファターゼ、H<sup>+</sup>-PPase) は、植物、寄生原生動物、特定の細菌（光合成細菌、放線菌 *Streptomyces coelicolor*）に分布し、大腸菌、酵母や動物には存在しない。植物では液胞膜に局在し、細胞質の無機ピロリン酸 (PPi) を加水分解（放出される標準自由エネルギー変化19 kJ/mol）し、得られるエネルギーを利用してプロトンを液胞内に能動輸送する。ATP合成酵素、Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase、液胞型H<sup>+</sup>-ATPaseとも異なり、単一タンパク質（70–80 kDa）で構成されるユニークなプロトンポンプである。

放線菌のH<sup>+</sup>-PPaseは大腸菌の系で、機能分子として容易に発現させることができ、変異酵素の解析も可能であり（JB, 2005, 138:183）、システインスキニング法で膜トポロジーモデルを提案した（JBC, 2004, 279:35106）。さらに、放線菌H<sup>+</sup>-PPase（794残基）にランダムにアミノ酸置換変異を導入した変異酵素のライブラリー（3, 057種）を解析して、各残基の役割を解析し分子モデルを提案した（BBA, 2007, 1767:930; 1767:1401）。ここでは、酵素機能（PPi加水分解とH<sup>+</sup>能動輸送）の低下の度合いを指標としたが、一部、酵素機能が増進する変異型（Phe388、Ala514に変異）が検出された。

そこで、Phe388およびAla514残基を各々他の19種のアミノ酸に置換した変異酵素を作製して活性を測定したところ、Phe388をTyrに変異させた分子、Ala514をSerに変異させた分子、両方を変異させた分子（F388Y A514S）において、PPi加水分解活性が増大し、H<sup>+</sup>輸送活性が230~430%増大し、結果的にPPi加水分解活性に対するH<sup>+</sup>輸送活性の比（共役比）が約2倍となった。したがって、酵素のPPi:H<sup>+</sup>比が1:1から1:2に変化したとが推測される。Phe388とAla514は、膜ドメインと細胞質側親水性ループの境界領域にあり（図参照）、とくにPPi加水分解のエネルギーをH<sup>+</sup>能動輸送に転換する機構に関わっている可能性が高いと推測している。また、酵素のPPi:H<sup>+</sup>比を1:1に保持すること（膜内外のpH勾配をより高く形成する）が、放線菌にとって意味のある生理機能と推定される。

