

Mechanism of inhibition of Tributyltin chloride of the V type Molecular Motor.

Takeda M, Ikeda C, Shimabukuro K, Yoshida M, Yokoyama K. (2009) *Biophysical J.* Vol. 96 1210-1217

武田泉穂¹、池田千代^{1,2}、島袋勝俊¹、吉田賢右^{1,2}、横山謙^{1,2,3}

(1 東京工業大学・資源、2 科学振興機構、3 京都産業大学・総合生命)

トリブチル錫 (TBT) は F_1 の活性は阻害しないが、 V_0V_1 の ATPase 活性を阻害する。V-ATPase のみを阻害する特異的阻害剤の創出に繋げるため、TBT による V_1 の阻害機構を 1 分子計測系により詳細に調べた。TBT が無い場合は、連続的な回転が観察されるが、 $10 \mu\text{M}$ TBT 存在下では、頻繁に回転の停止が観察される。TBT 濃度が $50 \mu\text{M}$ の場合、停止時間はさらに延び、毎 120 度おきでの停止が観察された(図 1)。この停止時間をヒストグラム解析することにより、TBT の結合定数を算出した。

次に ATP 濃度が低い時での TBT 存在下の回転を観察した。ATP 濃度が $10 \mu\text{M}$ では、ATP の結合待ち時間による停止が観察される。この条件下で TBT を添加すると、さらに待ち時間が延びた。待ち時間のヒストグラム解析を行うと、一次の指数関数では近似できず、二次の指数関数式でよく近似できた(図 2)。一方の時定数は、ATP 待ち由来の値とよく一致した。このことから、TBT が ATP の結合に対して著しい影響を及ぼさないことが示唆された。

以上のことから、TBT は基質である ATP の結合を阻害しないが、ATP の結合によって起こる軸サブユニットの回転を止めることが示唆された。 F_1 を阻害しないことから、V-ATPase に特徴的な部位に TBT が結合して軸の回転が阻害される可能性がある。この阻害機構を解明すれば、V-ATPase のみを特異的に阻害する薬剤の開発につながるかもしれない。

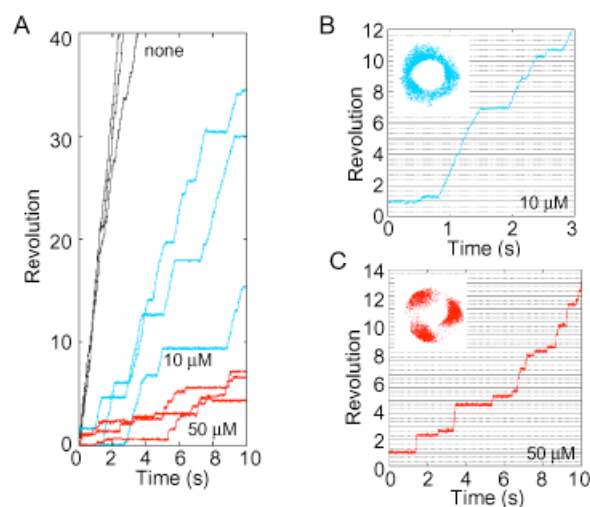


図 1 TBT 存在下での V_1 の回転
(A) TBT 0, 10, 50 μM 存在下での回転
(B) TBT 10 μM 存在下での回転 (拡大図)
(C) TBT 50 μM 存在下での回転 (拡大図)

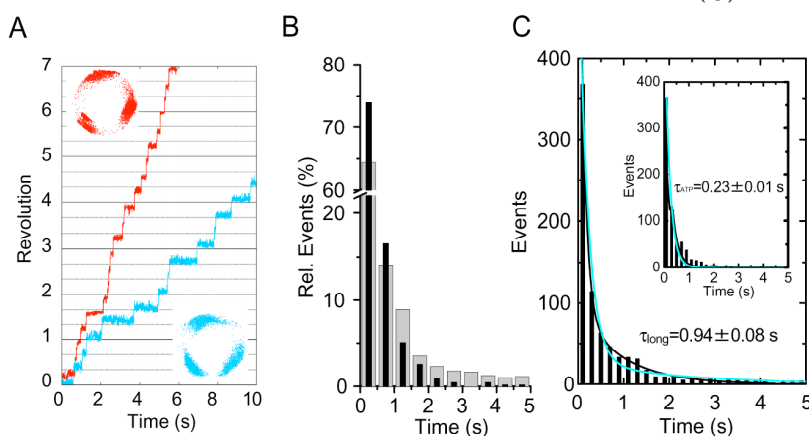


図 2 $10 \mu\text{M}$ ATP 存在下での回転に対する TBT の影響
(A) TBT 0 (赤)、10 (青) μM 存在下での回転
(B) 停止時間のヒストグラム TBT 0 (黒)、10 (グレー) μM 存在下
(C) 一次指数関数 (黒)、二次指数関数での近似