

提出日:2020 年 5 月 8 日

2019 年度 Bio-SPM 技術共同研究事業

研究成果の概要

実験課題名		動作中のミトコンドリア膜透過装置 TOM 複合体を通過する前駆体タンパク質の動態解析	
申請者 (実験責任者)	氏名	荒磯 裕平	
	所属機関名・部局名	金沢大学 医薬保健研究域 保健学系	
	職名	助教	
利用した Bio-SPM 技術 (該当の技術の右欄に○)		<input type="checkbox"/>	超解像 AFM(FM-AFM 及び、3D-AFM)
		<input type="checkbox"/>	高速 AFM
		<input type="checkbox"/>	SICM
NanoLSI 受入担当教員名		今井大達	
<p>TOM(Translocase of the outer mitochondrial membrane)複合体はミトコンドリア外膜に存在する膜タンパク質複合体で、サイトゾルで合成されたミトコンドリアタンパク質の殆どは TOM 複合体によってミトコンドリア内部へと取り込まれる。TOM 複合体は、タンパク質搬入口を形成するβ バレル型チャンネル Tom40、および 1 回膜貫通ヘリックスを有する 6 つのサブユニットから構成される。TOM 複合体は 3 つの Tom40 チャンネルを含む 3 量体として機能することが示唆されてきたが、近年のクライオ電子顕微鏡解析では 2 つの Tom40 チャンネルを含む 2 量体構造が決定された。すなわち、ミトコンドリア膜上の TOM 複合体は複数のアッセンブリー状態の動的平衡にあり、異なるアッセンブリー状態を行き来する構造変換メカニズムの存在が考えられる。</p> <p>本研究課題では、高速原子間力顕微鏡(HS-AFM)解析によって 100 ミリ秒の時間分解能とナノメートルの空間分解能にて TOM 複合体の動的構造解析を行い、1 分子の TOM 複合体が 3 量体と 2 量体を行き来する瞬間や、前駆体ミトコンドリアタンパク質を取り込む様子を可視化することで、TOM 複合体の動作メカニズムを解明することを目的とする。</p> <p>今年度は、精製 TOM 複合体の HS-AFM 解析によって、界面活性剤存在下で単量体、2 量体、3 量体と考えられる TOM 複合体粒子を観察することに成功した。各粒子のラインプロファイル計算によって、HS-AFM 解析で得られた 2 量体粒子像とクライオ電子顕微鏡解析で決定された 2 量体構造のジオメトリーはよく一致することも明らかになった。また、3 量体と考えられる粒子は 3 回対称性を持ち、時間経過とともに単量体が一つ外れ、2 量体へと構造変換する様子を捉えることに成功した。</p> <p>今後は本研究成果をベースとして、(1)TOM 複合体を脂質二重膜に再構成し、生理条件に近い状態で分子動態を観察する、(2)様々な基質タンパク質を添加し、TOM 複合体がタンパク質を取り込む様子を可視化する実験へと進む。</p>			

※本様式 3 は、“事業成果報告”として、ホームページにて公開させていただく予定です。

※必ず A4 用紙 1 枚におさめて下さい。 ※提出期限:2020 年 5 月 8 日(金) ※提出の際は PDF 変換して下さい。

※提出先:金沢大学 WPI-NanoLSI Bio-SPM 技術共同研究事業担当係 E-mail: Bio-spmscr_nano@ml.kanazawa-u.ac.jp