

提出日:2021 年 5 月 7 日

2020 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○)			超解像 AFM(FM-AFM 及び、3D-AFM)
		○	高速 AFM
			SICM
NanoLSI 受入担当教員名		今井大達、古寺哲幸	
<p>TOM(Translocase of the outer mitochondrial membrane)複合体はミトコンドリア外膜に局在するヘテロ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、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 チャンネルを含む三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 チャンネルを含む二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 複合体が三量体と二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>精製 TOM 複合体に対して界面活性剤存在下で HS-AFM 解析を行い、2分子の Tom40 チャンネルを含む二量体、3分子の Tom40 チャンネルを含む三量体と考えられる TOM 複合体粒子を観察することに成功した。HS-AFM 像から抽出したラインプロファイルによって、本研究で観察された二量体 TOM 複合体粒子の分子サイズは、以前我々が報告した TOM 複合体のクライオ電子顕微鏡構造と概ね一致することが明らかになった。さらに、三量体から1分子の Tom40 チャンネルが外れて二量体へ、または二量体に1分子の Tom40 チャンネルが結合し三量体へと構造変換する様子を可視化することにも成功した。ここまでの解析から、三量体 TOM 複合体は3回対称性を持つ完全な正三角形型ではなく、安定な二量体構造に peripheral な単量体が結合した(2+1)型の複合体であることが示唆され、TOM 複合体の構造変換機構の一端が明らかになった。</p> <p>今後は、より生体内に近い状態での解析を目指して、脂質二重膜へ TOM 複合体を再構成し、基質タンパク質を取り込む様子をムービーとして捉えるための観察条件を最適化していく。</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:2021 年 5 月 7 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