

提出日:2023 年 5 月 8 日

2022 年度 Bio-SPM 技術共同研究事業

研究成果の概要

実験課題名		ミトコンドリア生合成を制御する分子装置の構造とダイナミクス	
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		古寺 哲幸	
<p>ミトコンドリアは二重の生体膜と独自のゲノムを有する細胞内小器官であり、ATP 産生や代謝、アポトーシス誘導などの役割を担っている。そのため、ミトコンドリアの恒常性維持は細胞の機能発現の基盤であり、ミトコンドリア生合成を制御する仕組みに大きな注目が集まっている。本研究では、ミトコンドリア機能発現に必須なタンパク質輸送と膜分裂を制御する膜タンパク質複合体に着目し、1分子レベルのダイナミクス解析を通して動作機序を明らかにすることにより、ミトコンドリア生合成機構の一端を解明することを目的とした。</p> <p>タンパク質輸送 ミトコンドリア外膜に存在する TOM 複合体は、ミトコンドリアタンパク質の搬入口として働く膜透過装置で、サイトゾルで合成された前駆体ミトコンドリアタンパク質の認識と膜透過を担う。TOM 複合体の高分解能立体構造は長きに渡って不明であったが、3つのタンパク質透過チャンネルを有する3量体として機能することが示唆されていた。一方、2019 年に我々が決定したクライオ電子顕微鏡構造では、TOM 複合体はチャンネルを2つ有する2量体構造をとっていた。すなわち、TOM 複合体は複数種類のオリゴマーの平衡状態として存在することが推測されるが、その生理学的な意義には不明点が多い。本研究では、HS-AFM 解析によって、精製 TOM 複合体が溶液中において均一な3量体構造をとることを明らかにした。また、3量体 TOM 複合体は2量体と単量体に解離しやすいことも明らかになった。以上の結果より TOM 複合体は安定な2量体と不安定な単量体が会合した特徴的な3量体構造をとっていることが考察できる。さらに、TOM 複合体と基質タンパク質の相互作用をリアルタイム観察することにも成功し、基質認識機構の解明に取り組んでいる。</p> <p>膜分裂 Drp1 は細胞質に局在する GTPase の一つであり、ミトコンドリア外膜に沿って環状のオリゴマーを形成し、ミトコンドリア分裂を駆動すると考えられている。しかし、Drp1 を介したミトコンドリア膜分裂の分子機構には不明な点が多く、分子ダイナミクスに着目した新しい解析手法が求められている。本研究では、精製 Drp1 の HS-AFM 解析によって、Drp1 の2量体構造を捉え、GTP 結合ドメインのダイナミックな動きを可視化することに成功した。さらに、GTP 依存的に Drp1 が構造変化し、長く連なったオリゴマーを形成する様子も観察することができた。現在は観察基板上にリン脂質膜を再構成し、Drp1 とリン脂質膜の相互作用を可視化する実験系を構築中であり、脂質膜上における Drp1 の分子動態解析に進む予定である。</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:2023 年 5 月 8 日(月) ※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: nanolsi_openf01@ml.kanazawa-u.ac.jp