

提出日:2024 年 5 月 10 日

2023 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	准教授
利用した Bio-SPM 技術 (該当の技術の右欄に○)		原子分解能/3D-AFM
	○	高速 AFM
		SICM
		細胞測定 AFM
NanoLSI 受入担当教員名	古寺 哲幸	
<p>ミトコンドリアの恒常性維持機構は細胞の機能発現の基盤であり、ミトコンドリア生合成や異常化の分子メカニズム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や分解、さらには分裂と融合を伴う膜形態の制御機構に着目し、タンパク質のダイナミクス解析を通してミトコンドリア生合成メカニズムの解明を試みた。特に、ミトコンドリア外膜のタンパク質輸送ゲート TOM 複合体、ミトコンドリア内膜で膜間部のタンパク質分解を担う Yme1 プロテアーゼ、ミトコンドリア分裂を制御する Drp1 について、高純度精製した試料を用いて HS-AFM 解析を精力的に進めた。各タンパク質の成果を下記に纏めた。</p> <p>【TOM 複合体】 精製 TOM 複合体が3量体構造をとり、時間経過とともに2量体と単量体に解離する様子を鮮明に捉えることに成功した。また、補助サブユニット Tom6 や Tom7 を欠損した TOM 複合体をイメージングしたところ、3量体構造は維持されているものの、粒子の均一性が下がり、粒子径も野生型よりも小さくなることが示唆され、Tom6 や Tom7 が TOM 複合体の安定化に関与していることが明らかになった。今後は受容体ドメインを標識し視認しやすくしたうえで基質タンパク質を添加し、受容体と基質の相互作用を解析する。</p> <p>【Yme1】 精製 Yme1 の HS-AFM 解析を行い、構造既知の触媒ドメインと、未決定の膜貫通領域で構成される Yme1 全長をイメージングすることに成功した。現在は、基質タンパク質分解をリアルタイムイメージングできる実験系を構築するため、Yme1 の脂質膜再構成に取り組んでいる。</p> <p>【Drp1】 HS-AFM 解析により、溶液中の Drp1 は均一な二量体構造を形成することが明らかとなり、二量体の両端に位置する G ドメインがダイナミックに動く様子を捉えることに成功した。また、Drp1 二量体が GTP 添加によってオリゴマーを形成することが明らかになった。さらに、ミトコンドリア外膜を模したリン脂質二重膜をマイカ基板に固定し、リン脂質膜存在下で Drp1 の分子動態を解析する実験系を構築した。その結果、GTP の添加によって Drp1 粒子がリン脂質膜辺縁ヘリクルートされる様子を捉えることができた。また、Drp1 との相互作用により、リン脂質二重膜の辺縁が変形することも明らかになった。これらの脂質膜への集積は、GDP や非水解アナログ GMPPNP 添加時には観察されなかった。以上により、Drp1 が GTP 加水分解に依存してリン脂質二重膜に直接相互作用することを1分子レベルで明らかにした。</p>		

※本様式 3 は、“事業成果報告”として、NanoLSI Web サイト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:2024 年 5 月 10 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 山崎 E-mail: nanolsi_openf01@ml.kanazawa-u.ac.jp