

提出日: 2025 年 5 月 9 日

2024 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○)		<table><tr><td></td><td>原子分解能/3D-AFM</td></tr><tr><td>○</td><td>高速 AFM</td></tr><tr><td></td><td>SICM</td></tr><tr><td></td><td>細胞測定 AFM</td></tr></table>		原子分解能/3D-AFM	○	高速 AFM		SICM		細胞測定 AFM
	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要なタンパク質輸送や膜分裂を制御する膜タンパク質複合体を高純度精製し、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で、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。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、ミトコンドリア外膜において膜分裂を制御する Drp1、ミトコンドリア外膜で膜融合を駆動する Mfn1 について、高純度精製したタンパク質試料を用いて HS-AFM 解析を精力的に進めた。各タンパク質の研究結果を下記に纏めた。</p> <p>【TOM 複合体】これまでの HS-AFM 解析により、精製 TOM 複合体が3量体構造をとることが明らかになってきたが、構造が不安定で解離しやすく、基質タンパク質との相互作用解析には不向きであることが課題であった。そこで今年度は、サブユニット間の化学架橋やナノディスクへの再構成を行い、3量体構造の安定化を試みた。化学架橋した TOM 複合体の HS-AFM 観察においては、架橋前試料と同形状の分子像が得られ、サブユニットの解離も抑えることができた。続いて、TOM 複合体の受容体領域に結合する抗体を添加したところ、TOM 複合体の辺縁にて抗体との相互作用が認められ、受容体の空間配置を決定するための重要な構造情報が得られた。今後は基質タンパク質の結合・透過を可視化する実験系を構築する。</p> <p>【Drp1】これまでに、Drp1 が2量体を形成し、GTP 依存的に脂質膜に集積される様子をとらえることができたが、今年度は病原変異を導入した変異型 Drp1 を精製し、野生型との構造比較によってミトコンドリア機能異常を引き起こす分子機序の解明を試みた。その結果、変異型と野生型では、GTP を添加した際の脂質膜へのアフィニティやリクルート様式に差異が出ることが示唆された。</p> <p>【Mfn1】膜貫通領域を含む全長 Mfn1 の HS-AFM 解析によって、フレキシブルなヘリックスバンドルに球状の G ドメインが結合した特徴的な分子像をイメージングすることに成功した。さらに、GTP 依存的に Mfn1 同士が会合する様子を捉えることができた。現在は、脂質二重膜リポソームやナノディスクに Mfn1 を再構成し、Mfn1 が駆動する膜融合を可視化することに挑戦し、分子メカニズムの解明に取り組んでいる。</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: 2025 年 5 月 9 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 国岡 E-mail: [nanolsi\\_openf01@ml.kanazawa-u.ac.jp](mailto:nanolsi_openf01@ml.kanazawa-u.ac.jp)