

安藤 敏夫

金沢大学理工研究域数物科学系  
教授

ATP/GTP が駆動するタンパク質マシナリーの動的構造生命科学

## § 1. 研究実施体制

### (1) 安藤グループ

- ① 研究代表者: 安藤 敏夫 (金沢大学理工研究域バイオ AFM 先端研究センター, 教授)
- ② 研究項目
  - ・試料操作可能な高速 AFM の開発
  - ・高速 AFM の周辺デバイスの開発
  - ・ATP-PEG の合成と利用検討
  - ・モータタンパク質・ダイナミン系などの高速 AFM 解析

### (2) 小椋グループ

- ① 主たる共同研究者: 小椋 光 (熊本大学発生医学研究所, 教授)
- ② 研究項目
  - ・AAA 型分子シャペロンの高速 AFM 解析
  - ・その他の分子シャペロンの高速 AFM 解析

### (3) 竹居グループ

- ① 主たる共同研究者: 竹居 孝二 (岡山大学大学院医歯薬学総合研究科, 教授)
- ② 研究項目
  - ・Dynamamin 系 GTPase の高速 AFM 解析のための再構成系の確立
  - ・Dynamamin 系 GTPase の高速 AFM 解析

## § 2. 研究実施の概要

ATP や GTP といったヌクレオチド三リン酸 (NTP) を分解する酵素である ATPase/GTPase の多くはその分解で開放されるエネルギーを利用して力学的な仕事をする。それ故、メカノエンザイムと呼ばれる。通常単独では機能しない。NTP を分解しつつ動的に構造を大きく変化させるとともに、パートナータンパク質、基質タンパク質、サブユニットとの相互作用を動的に変える。それらの変化が力学的作用となって機能を発現する。従って、動く、引っ張る、押す、裂く、絞るといった力学作用の現場を高い空間時間分解能で直接観ることは、ATPase/GTPase がもつ多彩な機能の発現機序の理解にとって最も素直で直接的なアプローチである。代表者が世界に先駆けて開発した高速原子間力顕微鏡 (高速 AFM) は溶液環境下で動作中のタンパク質分子の構造動態を直接観ることを初めて可能にした。メカノエンザイムの力学的動作は機能と直結しているため、高速 AFM はメカノエンザイムの機能そのものをスクリーンに映し出すことができる。実際、図 1 に示すように Actin 線維上を歩行運動する Myosin V 分子の運動を捉え、歩行メカニズムやエネルギーの利用の仕方について深い洞察を与えることに成功している。

本プロジェクトではチーム外の研究者の協力も得て多くのメカノエンザイムを中心に高速 AFM 観察を行い、それらの機能発現機序の詳細解明を目指している。しかし、成功に至るまでにはいくつかのハードルを越えなければならない。観察すべき対象と現象に適した基板など最適なアッセイ系を構築することが要求される。試料を調製し、選んだ基板を使って試験観察を行い、その結果を参考にアッセイ系を検討し、変異体の調製、基板の変更、再度試験観察といった作業を繰り返す根気の要る作業である。

本年度は、ATPase については、AAA 型分子シャペロンである ClpB, p97/VCP や 26S プロテアソーム、時計タンパク質 KaiA/B/C, V<sub>1</sub>-ATPase, Myosin VI, DNA 関連の ATPase である Gyrase と MukB の観察を継続し、新たにミニ染色体維持タンパク質 ssoMCM, ABC 型トランスポータ膜タンパク質、シグナル伝達に重要な CaM-Kinase の観察に着手した。GTPase については、Dynamamin/Amphiphysin のリング状複合体の構造変化と複合体による膜切断、Dynamamin/Cortactin 複合体のリング状複合体の構造変化を捉えるべく、試験観察を通してアッセイ系を検討した。ATP/GTPase 以外にも、オートファジー関連 Atg タンパク質、過酸化により分子シャペロンに機能変換するとされる Prx, 酸化還元依存型分子シャペロン DJ-1, 軸糸微小管、天然変性タンパク質、(IDP) である酵母のプリオン様タンパク質 Sup35 などの高速 AFM 観察に取り組んだ。多くの系を手掛けているが、ClpB, KaiA/B/C, Myosin VI, p97/VCP では機能に直結する構造変化や動的相互作用が観察され、機能メカニズムを議論できる段階に入った。その他にも、Prx, 軸糸微小管、IDPs などでも重要な結果が得られた。

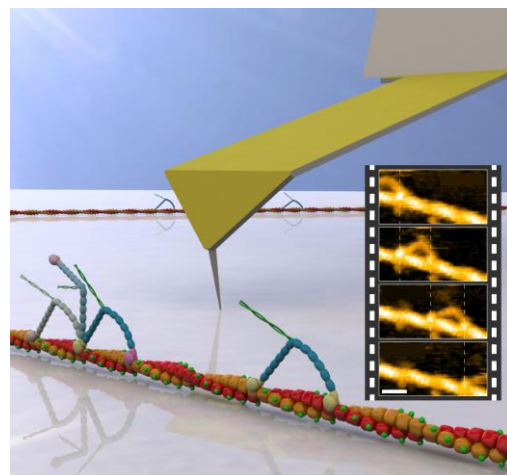


図 1. Myosin V の歩行運動の高速 AFM 観察