

安藤 敏夫

金沢大学理工研究域数物科学系
特任教授

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数物科学系、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

タンパク質は生命現象のほぼすべてを担う機能素子であり、動的に構造や他分子との相互作用を変えながら一分子レベルで機能する。それ故、タンパク質が機能する仕組みの理解には動的な構造と機能プロセスを一分子レベルで直視することが最も有効と考えられる。だが、従来の構造生物学的手法では静止構造情報しか得られず、また、従来の一分子生物学的手法では、光学技術に基づくため、例え超解像であっても、タンパク質分子そのものを観察できない。従って、構造と動的挙動を同時に知ることはできなかった。この技術の限界は、代表者が開発に成功した高速 AFM により克服され、既にいくつかのタンパク質系でこの新規顕微鏡法の有効性と革新性が実証されている。本研究は、高速 AFM を実際に応用するときに必要な技術を開発しつつ、動作中のタンパク質分子を直視する研究を、チーム外の研究者の協力も得て、ATPase や GTPase といったメカノエンザイムを中心に多様なタンパク質系を対象に広く展開することを目指している。

本プロジェクトで進めている多様なタンパク質系の高速 AFM 観察の内、Collagenase が Collagen ファイバーを分解しながら一方向運動することを見出した研究[1]、オートファジータンパク質 Atg13 の Order/disorder 遷移を捉えた成果を含む研究[2]、GroEL-GroES 系の反応サイクルの詳細を解明した研究[3]の成果は下記のように既に論文として発表した。いずれも動態を直視することにより従来手法では得られない新しい発見に導いた。

- [1] T. Watanabe-Nakayama, M. Itami, N. Kodera, T. Ando and H. Konno, High-speed atomic force microscopy reveals strongly polarized movement of clostridial collagenase along collagen fibrils, *Sci. Rep.* 6:28975 (2016).
- [2] Hayashi Yamamoto, Yuko Fujioka, Sho W. Suzuki, Daisuke Noshiro, Hironori Suzuki, Chika Kondo-Kakuta, Yayoi Kimura, Hisashi Hirano, Toshio Ando, Nobuo N. Noda, Yoshinori Ohsumi, The Intrinsically Disordered Protein Atg13 Mediates Supramolecular Assembly of Autophagy Initiation Complexes, *Dev. Cell* 38:86-99 (2016).
- [3] D. Yamamoto and T. Ando, Chaperonin GroEL-GroES functions as both alternating and non-alternating engines, *J. Mol. Biol.* 428, 3090-3101 (2016).

イメージングを中断せずに試料を操作（擾乱を加えたり、破壊）できるインタラクティブ高速 AFM は、Myosin V (さきがけの古寺氏との共同研究) とダブルレット微小管 (CREST の吉川氏との共同研究) に加え、酸化還元酵素 Peroxiredoxin の ATP/ADP 添加で形成される球状高分子複合体に適用し、このモードならではの観察に成功しており、論文投稿ないしは論文執筆に至っている。その他の論文準備中の研究を含め、順調に進捗している。

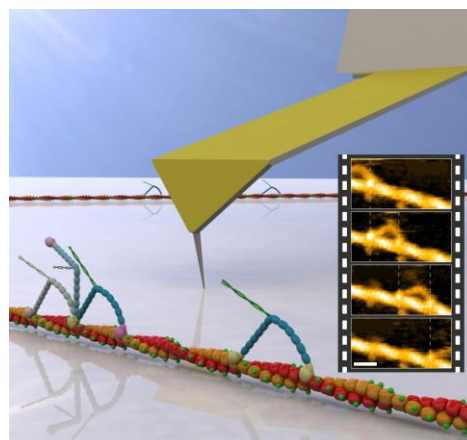


図 1. 高速 AFM はタンパク質分子の動態を活写する。