

安藤 敏夫

金沢大学ナノ生命科学研究所 (WPI-NanoLSI)
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 (金沢大学ナノ生命科学研究所 特任教授)
- 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

(4) 内橋グループ

- ① 主たる共同研究者: 内橋 貴之 (名古屋大学大学院理学研究科 教授)
- ② 研究項目
 - ・リング状 ATPase (ClpB, PilB) の高速 AFM 解析

- Kai タンパク質間相互作用の高速 AFM 観察
- プロテアソーム関連タンパク質の高速 AFM 解析
- 高速 AFM 周辺技術の開発

§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するとともに、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。

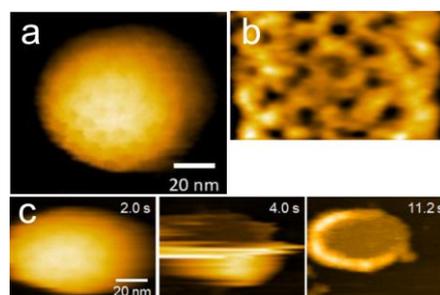
本プロジェクトで進めている多様なタンパク質系の高速 AFM 観察の内、GroEL-GroES 系の詳細な反応サイクルとその基質依存性、及び、GroEL のリング間で生ずるアロステリックコミュニケーションを解明した研究[1]、Peroxioredoxin の機能が Peroxidase から分子シャペロンに切り替わる仕組みを解明した研究[2]、Dynamin・amphiphysin 複合体が膜を切断する仕組みを解明した研究[3]などの成果を論文として発表した。いずれも動態を直視することにより従来手法では得られない新しい発見に導いた。これら以外にも、イオン環境に応じて細菌鞭毛の回転モーターが切り替わる仕組みを解明した研究、分子シャペロン ClpB が凝集したタンパク質を脱凝集する機能に直結する動的な大きな構造変化を解明した研究(印刷中)など着実に成果を上げることができた。

代表的原著論文

[1] D. Noshiro and T. Ando, "Substrate protein dependence of GroEL-GroES interaction cycle revealed by high-speed AFM imaging", *Phil. Trans. R. Soc. B* 373: 20170180 (10 pages) (2018).

[2] T. Haruyama, T. Uchihashi, Y. Yamada, N. Kodera, T. Ando and H. Konno, "Negatively charged lipids are essential for functional and structural switch of human 2-Cys peroxiredoxin II", *J. Mol. Biol.* 430(5): 602-610 (2018).

[3] T. Takeda, T. Kozai, H. Yang, D. Ishikuro, K. Seyama, Y. Kumagai, T. Abe, H. Yamada, T. Uchihashi, T. Ando, and K. Takei, "Dynamic clustering of dynamin-amphiphysin helices regulates membrane constriction and fission coupled with GTP hydrolysis", *e-Life* 7: e30246 (19 pages) (2018).



(a)Prx の高分子量複合体の AFM 像と(b)そのハイパスフィルター像。(c)高分子量複合体を AFM 探針で破壊したときの AFM 像。破壊後の像から高分子量複合体が Prx の六量体で覆われたリポソームであることを発見[2]。