

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・ダイナミン系の高速度 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。しかし、解析可能な情報が静止構造に限られる従来の構造生物学的手法や、タンパク質に付けた光学プローブの挙動を観測できるもののタンパク質分子そのものは観察出来ない従来の一分子生物物理学的手法では、このような直接観察はできず、新しい手法の出現が待たれていた。

代表者が最近開発に成功した高速原子間力顕微鏡(高速 AFM)は、タンパク質を染色したりラベルすることなく、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手に取るように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接関係しているため、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。本研究では、働いている分子・複合体(或いは、オルガネラ)の現場を直に観る、時には分子を操作する新しい手法により、ATP や GTP で駆動される多彩なタンパク質マシナリーについて、①機能発現機序、②複数の NTPase サブユニット間の協調メカニズムと作用、③化学・力学エネルギー変換の本質、の解明研究を推進し、新しい構造生命科学を開拓することを目指している。メカノエンザイムとして、モータータンパク質、AAA タンパク質、ダイナミンとその関連タンパク質が主な解析対象である。

以上の目標を達成するために、本研究プロジェクトのスタートとなる今年度は、これまで観察を試みてきた試料の内、モータータンパク質である Myosin V、Myosin X、Dynein、Helicase である RecBCD、AAA 型分子シャペロン p97/VCP、26S プロテアソームの観察を行い、観察が難しい系について基板を含めたアッセイ系の検討を進めた。最近観察を開始した Dynamin/Cortactin、Dynamin/Amphiphysin については高速 AFM 観察のための再構成系やアッセイ系の検討を行った。新たに観察を試みる系(バクテリアの smc タンパク質、DNA Gyrase、ヒト DRP1、マリアダイナミンなど)については、発現・精製方法の検討や一部について試験観察を行った。また、来年度以降の本格的な高速 AFM 解析に向け、高速 AFM 装置一台を新たに製作した。試料操作機能を高速 AFM 装置に付加する開発も行った。このインターラクティブ高速 AFM はイメージングを中断することなく、分子の特定箇所を針先で一瞬強く叩くことができ、タンパク質分子の機能動作や構造を一時的に変え、その影響を可視化できる。AFM は ATP や GTP といった小さい分子を可視化できないため、これらのヌクレオチドに高分子 PEG を付けて可視化することも本研究では狙っている。今年度はその合成や精製の方法を検討した。

§ 3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

論文詳細情報(国内)

該当なし

論文詳細情報(国際)

1. Yamada, H., Abe, T., Li, SA., Tago, S., Huang, P., Watanabe, M., Ikeda, S., Ogo, N., Asai, A., and Takei, K. "N'-[4-(dipropylamino)benzylidene]-2-hydroxybenzohydrazide is a dynamin GTPase inhibitor that suppresses cancer cell migration and invasion by inhibiting actin polymerization. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* Vol. 443, No. 2, pp. 511-517 (2014) (DOI: 10.1016/j.bbrc.2013.11.118)
2. Ando, T., Uchihashi, T., and Scheuring, S. "Filming biomolecular processes by high-speed atomic force microscopy", *Chem. Rev.* (in press) (DOI:0.1021/cr4003837).