

京都大学教育研究振興財団助成事業
成 果 報 告 書

令和 3年 4月 8日

公益財団法人京都大学教育研究振興財団

会 長 藤 洋 作 様

所 属 部 局 京都大学大学院工学研究科

職 名 准教授

氏 名 菅瀬 謙治

助 成 の 種 類	令和2年度 ・ 研究活動推進助成			
申請時の科研費 研究 課 題 名	生命科学におけるATP-Mg会合体の構造と機能の解明			
上記以外で助成金 を 充 当 した 研 究 内 容	なし			
助成金充当に関 わる共同研究者	(所属・職名・氏名) なし			
発表学会文献等	(この研究成果を発表した学会・文献等)			
成 果 の 概 要	研究内容・研究成果・今後の見通しなどについて、簡略に、A4版・和文で作成し、添付して下さい。(タイトルは「成果の概要／報告者名」)			
会 計 報 告	交付を受けた助成金額	1,000,000	円	
	使用した助成金額	1,000,000	円	
	返納すべき助成金額	0	円	
	助成金の使途内訳	費 目	金 額	
		消耗品費	653,120	
		雑役務費	337,464	
		委託調査研究費	9,416	
当財団の助成に つ いて	(今回の助成に対する感想、今後の助成に望むこと等お書き下さい。助成事業の参考にさせていただきます。) この度は支援していただき大変感謝いたします。貴財団の支援のおかげで当該研究を進めることができ、昨年度までに実施した内容を原著論文として投稿することができました。今後も同様な助成事業を続けていただけると、京都大学の多くの研究者にとって非常にありがたいと存じます。			

令和2年度 京都大学教育研究振興財団
研究活動推進助成 成果の概要

工学研究科・准教授 菅瀬謙治

研究概要

アデノシン三リン酸(ATP)は、生体内の主要な化学エネルギー通貨・リボ核酸の構成要素・リン酸基供与体など、生化学的に重要な役割を果たす代謝物である。最近、ATP がタンパク質の凝集を抑制するヒドロトロブとして機能することが提唱されたが (Patel et al, *Science* 2017)、その原子レベルのメカニズムは不明であった。そこで本研究では核磁気共鳴法(NMR)や分子動力学(MD)計算などを用いて ATP とタンパク質との相互作用を詳細に研究した。

実験と結果

1. ATP オリゴマーとタンパク質の相互作用

タンパク質に ATP を滴下しながら NMR スペクトルの変化を見る NMR 滴定実験を行った結果、ATP はタンパク質に対して非特異的に弱く結合するが、2 mM 以上 (細胞内濃度は 2~8 mM) の ATP 濃度からスペクトル変化が際立って大きくなることが分かった。等温滴定カロリメトリー・動的光散乱・NMR による並進拡散係数測定・MD 計算などから、ATP が濃度依存的にわずかにオリゴマーを形成することが分かった。このことから上述の NMR 滴定実験の結果は、ATP オリゴマーが ATP 単体より強くタンパク質と結合すると考察できる。

2. タンパク質の水和状態に及ぼす ATP の影響

上記の ATP の滴定実験においてタンパク質のアミドプロトンのシグナルが通常よりも強く観測されることに気づいた。アミドプロトンは水の水素原子と交換するが、この交換が速いと NMR シグナルの強度が低下する。このことは、ATP がタンパク質の水和状態を変化させることを示唆する。実際に NMR による水とアミドプロトンの水素交換速度を計測したところ、予想通りに ATP 存在下では水素交換速度が低下していた。MD 計算からはタンパク質-水間の水素結合がタンパク質-ATP 間の水素結合に置き換えられることを観測した。

結論

以上の知見をもとに、ATP によるタンパク質の抗凝集特性のメカニズムを提案する。まず、ATP はプリン環という疎水的な芳香環・高水溶性のリン酸基とリボースから構成されているため、ミセルを形成するような界面活性剤ほどではないが両親媒性である。この両親媒性の性質のため、細胞内の濃度である 2~8 mM で ATP はわずかにオリゴマーを形成する。この ATP オリゴマーがタンパク質の表面、とくに凝集しやすい溶媒にさらされた疎水的な領域に弱く、しかし水よりも強く結合することによってその領域をマスクする (単体の ATP もタンパク質と相互作用する)。このことによって、タンパク質が凝集する確率が低下し、ATP がない場合と比べてタンパク質が溶液中に安定に存在できるようになる。ATP のオリゴマー化は、ATP 分子同士の結合がエネルギー的に有利であることを反映している。つまり、ATP はタンパク質と他の ATP 分子の両方と相互作用することができるため、凝集しやすい表面間の強力な緩衝材として働くことができると考えられる。現在、これらの知見を原著論文としてまとめ投稿中である。