

アクチン線維構造解析と新しい電子顕微鏡法

Structural analysis of the actin filament and new electron microscopy techniques

成田 哲博¹

Nagoya Univ.¹

E-mail: narita@f.mbox.nagoya-u.ac.jp

細胞内で行われる活動のほとんどはタンパク質が担っており、その理解にはタンパク質の構造解析が必要不可欠である。タンパク質分子の大きさは数 nm で、光学顕微鏡ではその形を見ることは不可能であるため、タンパク質形態の実像観察にはもっぱら電子顕微鏡が用いられる。

タンパク質溶液を急速凍結し、多数の電子顕微鏡写真を撮影、タンパク質の三次元構造を明らかにするクライオ電子顕微鏡法と単粒子解析法の組み合わせは、近年その分解能を大幅に伸ばし、X線結晶学に迫るようになった。

私達がターゲットとしているアクチン線維は、細胞を動かし、細胞同士を繋ぎ、細胞の形を決めるなど、非常に多様で重要な役割を果たしている。線維の片方の端が重合端でもう一方の端が脱重合端であり、この重合、脱重合によってアクチン線維はモーターとしての活性を持つ。このモーターとしての活性を、アクチン線維の切断、分解によって200倍加速しているのが、コフィリンという蛋白質である。コフィリンは、ADPを結合したアクチン線維に選択的に結合し、結合の協同性からアクチン線維上にコフィリン結合クラスタを形成する。このクラスタの脱重合端側でコフィリンはアクチンを切断する。これらの機能を構造から理解するために、私達は3.8Å分解能のコフィリン結合アクチン線維像をクライオ電子顕微鏡法で決定した。この構造から、コフィリンによるアクチン線維の構造変化、アクチンとコフィリンの結合様式の詳細が理解され、コフィリンの機能の多くを説明するモデルを構築することができた。また、私達は同様の方法で岡山大学のRobert Robinsonのグループと共に原核生物のアクチン様蛋白質の解析も行っており、複数の高分解能構造を得ている。

このように、非常に強力な、近年注目を集めるクライオ電子顕微鏡法であるが、いくつかの欠点がある。1つは、同じ構造の像を大量に(分解能に依るが数千-数十万)集めないと三次元構造を決定できないこと。2つめは、複数の構造が混ざっている場合、これをわけるのが難しいこと、3つ目はタンパク質の動きを直接観察することができないことである。私達は1つ目と2つ目を解決するために、像歪みのない走査透過型電子顕微鏡によるタンパク質の構造解析を試みており、同時に3つ目を解決するための、パルス電子顕微鏡の開発を行っている。本講演では、クライオ電子顕微鏡で得られた構造とともに、これらの新しい電子顕微鏡法についても紹介したい。

