

スポンサーセッション SS-03

クライオ電子顕微鏡法が拓く構造生物学の新展開

日時: 2019年10月23日(木) 16:30 – 18:00

会場: 2F 福寿

概要: 近年の構造生物学分野におけるクライオ電子顕微鏡法の進展は著しく、X線結晶構造解析法、核磁気共鳴法と並ぶレベルにまで発展を遂げた。特にクライオ電子顕微鏡法の一手法である単粒子解析法 (Single Particle Analysis) は、従来、結晶化が困難とされた巨大超分子複合体や膜内在性タンパク質複合体の立体構造解析を可能にしている。

本セッションでは、Thermo Fisher Scientific社のクライオ電子顕微鏡を活用し、華々しい成果を挙げられている3名の若手研究者の先生方をお招きし、従来構造決定が困難とされたタンパク質複合体に対していかなるアプローチでクライオ電子顕微鏡法がタンパク質構造決定に貢献したか、さらには今後益々増加するであろうビッグデータ処理の可能性にも言及していただく。

モデレーター: 葦原 雅道 Masamichi Ashihara

サーモフィッシャーサイエンティフィック Thermo Fisher Scientific

演題 1: クライオ電子顕微鏡によるクロマチン構造基盤の解析

滝沢 由政 Yoshimasa Takizawa

東京大学定量生命科学研究所

Institute for Quantitative Biosciences, The University of Tokyo

真核生物は、膨大な量のゲノム DNA が高度に折りたたまれたクロマチン構造をとることにより細胞核内に収納されている。クロマチンは、4種類のコアヒストン(H2A、H2B、H3、H4)が2分子ずつ含まれるヒストン8量体がDNAに巻かれたヌクレオソームを基本構造とし、ヌクレオソームがリンカーDNAで繋がれることにより、高次構造を形成している。近年クライオ電子顕微鏡解析技術が飛躍的に進歩し、多くの結晶化が困難であった試料の立体構造が解かれてきた。クロマチンの分野でも主にヌクレオソーム単体の構造が、X線結晶構造解析により多数決定されていたが、ヌクレオソームと結合因子の複合体や高次クロマチンは、結晶化が困難なことから多くの構造は未知であった。我々は、クロマチン試験管内再構成技術により作製されたヌクレオソーム複合体や高次クロマチンを用いて、クライオ電子顕微鏡単粒子解析を行い、3次元構造を多数得る事に成功している。得られた3次元構造より、様々なクロマチンの基盤構造およびその構造変化が明らかになってきた。本セッションでは、最新のクライオ電子顕微鏡を用いたクロマチン構造解析をご紹介します。

演題 2: クライオ EM で見えてきた、ヌクレオソーム転写の分子メカニズム

江原 晴彦 Haruhiko Ehara

理化学研究所生命機能科学研究センター

Center for Biosystems Dynamics Research, RIKEN

真核生物の DNA はクロマチン構造を形成しているが、その最小単位として、ヌクレオソームと呼ばれる構造が存在する。ヌクレオソームは円盤状のタンパク質複合体であり、その周囲に DNA が巻き付いていることが知られている。一方、真核生物による転写は、RNA ポリメラーゼ(RNAP)と呼ばれる酵素によって行われている。RNAP は DNA を強く抱え込み、DNA 上を連続的に移動しながら転写を行う酵素であるため、転写中にヌクレオソーム構造と頻繁に衝突を起こすことが予想されていた。また、実際、過去の研究において、ヌクレオソームの存在が転写の伸長を阻害することが示されていた。ヌクレオソームによる転写の阻害機構や、その阻害を回避する分子メカニズム等は、真核生物における転写調節機構の一つとして重要であるが、RNAP とヌクレオソームを共に含む巨大複合体の構造を明らかにすることは、サンプルの不均一性等の問題により、従来の X 線結晶構造解析等では困難であった。

我々は今回、RNAP とヌクレオソーム DNA を用いた転写反応を試験管内で再現し、その反応後の溶液を用いて Cryo-EM 単粒子解析を行うことで、ヌクレオソームに巻き付いた DNA を RNAP が剥がしていく最中の構造を解明することができた。利用した転写反応液は不均一性が高く、ヌクレオソーム内の様々な箇所で RNAP が停止した複合体が混在していたが、画像処理の過程で計算機的に状態を分離することで、7 つもの異なる複合体構造を同時に解明することができた。さらに、転写伸長因子として知られる Spt4/5 及び Elf1 というタンパク質の存在下において、同様に転写反応と Cryo-EM 単粒子解析を行うことで、これらの因子がどのようにヌクレオソーム転写を促進するか、その分子メカニズムを明らかにすることができた。不均一なサンプルや、揺らぎのある構造を、そのまま解析することができるのは、Cryo-EM 単粒子解析の特長の一つであり、クロマチン転写だけではなく、様々な生命現象の理解において大きな役割を果たすことが期待される。

演題 3: クライオ電子顕微鏡により明らかになった脂質フリッパーゼ P4-ATPase の輸送機構

西澤 知宏 Tomohiro Nishizawa

東京大学理学系研究科

School of Science, The University of Tokyo

P4-ATPase は ATP 加水分解エネルギーを利用して、特定の脂質分子を選択的に脂質二重膜の外側から内側へと輸送するフリッパーゼとしてはたらくことで、生体膜における脂質の非対称分布の維持に関わる。非対称的な脂質分布は、シグナル伝達や膜形態の変化などに関わる。P4-ATPase は、筋小胞体カルシウムポンプ (SERCA) などと共通の仕組みを持つ P 型 ATPase ファミリーに属するが、ファミリー中で唯一脂質分子を輸送基質として持っており、その独特な機構は不明であった。今回、我々はクライオ電子顕微鏡によって P4-ATPase の輸送サイクルの複数の反応中間体を明らかにすることで、その詳細の機構を解明するに至った。その詳細を紹介したい。

お問い合わせ先:

日本エフイー・アイ株式会社

〒140-0002 東京都品川区東品川 4-12-2 品川シーサイドウエストタワー-1F

Tel 03-3740-0970 Fax 03-3740-0975