

【基盤研究(S)】 生物系(生物学)



研究課題名 X線結晶構造解析による細胞内及び細胞間での物質輸送の研究

兵庫県立大学・大学院生命理学研究科・特任教授

つきはら とみたけ
月原 富武

研究分野：構造生物化学

キーワード：X線結晶解析

【研究の背景・目的】

高等な生物では、特定の分子を働くべき場所に輸送する仕組みがあり、そのことによって高度に制御された生命の営みが可能になっている。こうした輸送に関わる生体超分子の立体構造を決定して、その働きを明らかにするのが本研究の目的である。特定の化学物質を運ぶ担体がどのように化学物質を認識し、どのような仕組みで目的の場所に移動するかを3つのケースで解き明かしたい。

細胞膜を介した物質の輸送に関わる膜蛋白質は多くある。そのうち、多細胞生物の細胞間コミュニケーションなどで重要な役割を果たしているのがギャップ結合チャネルである。本研究では、ギャップ結合チャネルのX線結晶構造解析を行う。

細胞質から細胞外排出及び核内への輸送ではボルト、核外への輸送ではイクスポーティンを研究対象に取りあげる。

我々は、ここ4～8年これらの生体超分子の調製、結晶化に集中的に取り組んで、何れも結晶化に成功して構造決定も進展してきた。

【研究の方法】

ギャップ結合チャネルでは、開孔型、閉孔型コネキシン26の構造を共に3.0Åを超える分解能で決定し、チャネルの開閉機構を解明する。またホモロジーモデリングによって細胞間接着が可能な異なったコネクソンの組み合わせを提案する。

ボルトは3.0Åを超える分解能の構造解析を行い、全構造を決定する。約100残基のC末領域ペプチドを発見、結晶化して構造決定を行う。これらの構造に基づいて構造構築機構および運ぶべき分子の取込み機構を解明する。

ボルトのX線結晶構造解析では、ウイルス以外では最大の分子の構造解析である。極めて薄い殻構造で巨大な中空を持つ粒子の構造ができる仕組みは全く謎である。構造構築の仕組みを解き明かすのがひとつの特徴である。

イクスポーティンはExportin・RanGTP・pre-microRNA 3者複合体の構造決定を3.0Å分解能で行う。

【期待される成果と意義】

蛋白質分子による輸送の神秘は、蛋白質が目的の分子を捕獲する仕組み、それが移動する仕組み、あるいは目的の化合物が移動する経路を通過

させる仕組みを調べることによって解き明かすことができる。

コネキシンのX線結晶構造解析では、細胞間での直接的な物質輸送の仕組みを明らかにするところに研究の特徴がある。

Exportin・RanGTP・Pre-microRNA 3者複合体のX線結晶構造解析では、イクスポーティンによるPre-microRNAの核外への輸送機構を解明するものである。細胞質においてRNA干渉を行うRNAを特異的に認識する仕組みの解明が最大の特徴である。

何れの研究においても、蛋白質複合体を精製、結晶化する過程がある。その困難さのために、まだ他の研究グループからは結晶化の成功例は出されていない。いずれの構造も今後の研究の要石となる。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

・ S. Maeda, S. Nakagawa, M. Suga, E. Yamashita, A. Oshima, Y. Fujiyoshi and T. Tsukihara, Structure of the connexin-26 gap junction channel at 3.5 Å resolution. *Nature*, **458**, 597-602 (2009).

・ H. Tanaka, K. Kato, E. Yamashita, T. Sumizawa, Y. Zhou, M. Yao, K. Iwasaki, M. Yoshimura and T. Tsukihara, The structure of rat liver vault at 3.5 angstrom resolution. *Science*, **323**, 384-388 (2009).

【研究期間と研究経費】

平成21年度～25年度

180,900千円

ホームページ等

http://www.sci.u-hyogo.ac.jp/life/GCOE/japanese/pico_intro/tsukihara/index.html