

【特別推進研究】

生物系



研究課題名 クライオ電子顕微鏡による 生体分子モーターの立体構造と機能の解明

大阪大学・大学院生命機能研究科・教授

なんば けいいち
難波 啓一

研究分野： 生物物理学

キーワード： 生物物理、ナノバイオ、ナノマシン、分子モーター

【研究の背景・目的】

生命機能は、タンパク質や核酸などの立体構造によって規定された生体分子機械としての動作機構と、ダイナミックな結合解離をともなう相互作用に支えられている。多くの生体分子は状況に応じて相互作用する相手を認識して超分子を形成し、あるいは結合解離を繰り返すことで、より複雑で巧妙に制御された機能を発揮しつつ、生命機能を支えるエネルギー・物質・情報ネットワークのダイナミクスを構築する。よって生命機能のしくみを理解するには、生体分子や超分子の立体構造に基づいて分子機械の動作機構や結合解離の制御のしくみを解明することが必須である。本研究課題の目的は、クライオ電子顕微鏡像の解析技術をより一層進歩させ、生体超分子の立体構造解析における到達分解能の向上と時間短縮により、アクチン・ミオシン、微小管・ダイニン、微小管・キネシン複合体や細菌べん毛モーターなど、超分子モーターの立体構造をできるだけ原子分解能に近づけて信頼性の高い原子モデルを構築することである。超分子モーター複合体での分子間相互作用と解離状態での分子構造を詳細に比較することで、力発生に関わるモーター分子の構造変化を捉えるとともに、一分子光学ナノ計測法による変異体の機能解析を組み合わせることで力発生とその制御のメカニズムを解明する。膜貫通構造であるため高分解能の立体構造解析が容易でない細菌べん毛モーターにおいても、様々な変異体べん毛モーターの一分子光学ナノ計測法による回転ステップ素過程の計測と、べん毛基部体のクライオ電子顕微鏡法による立体構造解析を組み合わせることで、トルク発生と双方向回転スイッチのしくみの解明を目指す。

【研究の方法】

高効率なクライオ電子顕微鏡単粒子像解析法により、繊維状の構造を持つ生体超分子モーターの立体構造解析を進める。リング状の構造を持つべん毛モーターでは、解析に適した変異体の構造解析と並行して一分子光学ナノ計測による機能解析も行う。構成蛋白質のX線結晶構造解析も併用することで、クライオ電子顕微鏡像解析法による立体像の検証と、信頼性の高い超分子の原子モデル構築に役立てる。試料調整、クライオ電子顕微鏡像の撮影条件、画像解析法の精度向上と効率化などの工夫を重ね、構成タンパク質の主鎖や側鎖が見える3Åの達成を目指す。遺伝子工学的手法で捉えた様々な機能変異体に

ついても高時間空間分解能の光学顕微ナノ計測システムによる機能解析を進め、構造と機能の相関からトルク発生のメカニズムに迫る。

【期待される成果と意義】

本研究で解析の対象とする生体分子モーターは、筋収縮や細胞運動、細胞の形態形成、細胞内物質輸送、細菌の運動など、どれも生命機能にとって極めて重要なものである。クライオ電子顕微鏡像解析法のさらなる工夫によって生体超分子の構造を原子レベルで解明できれば、構造生物学、分子生物学、細胞生物学、生物物理学などの研究分野に極めて大きなインパクトをもたらす。生理的機能を有する状態での分子モーター複合体の立体構造が解明可能になると、構成分子の様々な突然変異によって引き起こされる疾病の治療を可能にする創薬基盤となり、人工システムとは桁違いの省エネルギーで動作するシステムの実現につながる可能性も秘めている。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

Ruan, J., Kato, T., Santini, C.-L., Miyata, T., Kawamoto, A., Zhang, W.-J., Bernadac, A., Wu, L.-F. & Namba, K. (2012)

Architecture of a flagellar apparatus in the fast-swimming magnetotactic bacterium MO-1. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, **109**, 20643-20648.

Gayathri, P., Fujii, T., Møller-Jensen, J., van den Ent, F., Namba, K., Löwe, J. (2012)

A bipolar spindle of antiparallel ParM filaments drives bacterial plasmid segregation. *Science* **338**, 1334-1337.

Fujii, T., Iwane, A. H., Yanagida, T. & Namba, K. (2010)

Direct visualization of secondary structures of F-actin by electron cryomicroscopy. *Nature* **467**, 724-729, 2010.

Yonekura, K., Maki-Yonekura, S. & Namba, K. (2003)

Complete atomic model of the bacterial flagellar filament by electron cryomicroscopy. *Nature* **424**, 623-650.

【研究期間と研究経費】

平成25年度-29年度
442,700千円

【ホームページ等】

<http://www.fbs.osaka-u.ac.jp/jpn/general/lab/02/>