

重松秀樹



理化学研究所ライフサイエンス技術基盤研究センター

横浜市鶴見区末広町 1-7-22

hideki.shigematsu@riken.jp

クライオ電子顕微鏡単粒子解析による電位依存性チャネルの構造解析

2017年度のノーベル化学賞は「クライオ電子顕微鏡の開発」に貢献した3人の研究者に与えられた。生体高分子の構造解析手法として注目を集めているこの手法の「溶液中の生体分子を高分解能で構造決定できる」という部分が評価されてのことである。すなわち結晶化を必要としないこと、分解能が他の構造解析法に大きく近づいたことである。前者については以前から主張されてきたことだが、後者はこれまでのソフトウェア、ハードウェア開発が相まって起こった「分解能革命」といわれるブレークスルーに起因している。今回は、クライオ電子顕微鏡の特徴について概説すると共に現在われわれが取り組んでいる電位依存性カリウムチャネルの電位依存的な構造変化を明らかにする手法の開発状況について報告する。

細胞は脂質二分子膜を隔ててイオン組成が異なっており、これによって生じる電氣的なポテンシャルの差、膜電位を持つ。この膜電位に依存して機能を発現する電位依存性チャネルは、ノーベル生理学賞を受賞した MacKinnon らによる一連の X 線結晶構造解析によりその原子構造が明らかになっている。しかしながら、結晶構造は膜電位 0mV の状態であり、-100 mV 程度の不活性化状態の構造を得るには、脂質膜に埋め込まれた試料に膜電位を印可した状態で構造解析をしなくてはならない。われわれは、クライオ電子顕微鏡単粒子解析の特徴である結晶化を必要としない利点を活かし、脂質膜小胞に埋め込まれたチャネルに膜電位を進化した状態で構造解析を行う方法論開発を行っておりこれについて現状を報告する。

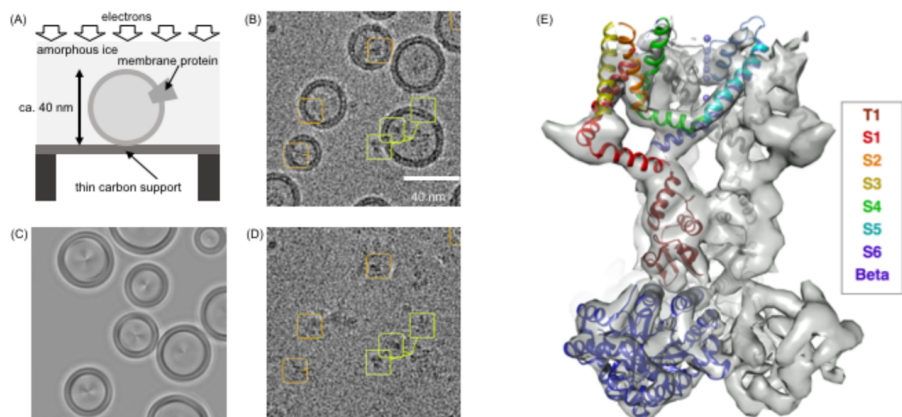


Fig. 1 7.5 Å-reconstruction Kv1.2 potassium channel reconstituted in liposome. (A) cut-through model of the specimen (B) Images of proteoliposomes under cryoEM (C) Models used for membrane-density subtraction (D) Particles after membrane subtraction (E) 7.5 Å-cryoEM model with crystal structure fitted