

In situ structural studies of protein complexes by cryo-electron tomography

福田善之

東京大学大学院医学系研究科

タンパク質分子間の相互作用およびタンパク質複合体の形成機構の解明は、細胞の機能を理解する上で重要である。クライオ電子線トモグラフィーにより、細胞のような複雑な構造を、生理的に近似な状態に保ちつつ、数ナノメートルの空間分解能で三次元的に可視化することが可能である。そして、クライオ電子線トモグラフィーとボルタ位相板を組み合わせた、ボルタ位相差クライオ電子線トモグラフィーでは、細胞の超微細構造が明瞭に観察されることが報告されている。本講演では、ボルタ位相差クライオ電子線トモグラフィーにより可視化された、細胞内のタンパク質複合体の「その場」での構造解析について発表する。

ボルタ位相差クライオ電子線トモグラフィーを用いて取得した、ラット海馬由来の初代培養神経細胞のトモグラムにおいて、26S プロテアソームやトリペプチジルペプチダーゼ II (TPP II) のようなタンパク質複合体が視認された。これらの分子をテンプレートマッチングにより検出し、平均化処理及び構造の分類をすることで、26S プロテアソームでは基底状態と基質分解状態に、TPP II では 36 量体と 32 量体に識別することに成功した。そして、それぞれの分子の局在位置の解析により、26S プロテアソームと TPP II の共局在性が示された。

このように、ボルタ位相差クライオ電子線トモグラフィーを用いることで、細胞内のタンパク質複合体の直接検出が可能になり、タンパク質複合体をそれが機能している「その場」での構造解析が可能になった。この方法を用いたタンパク質分子間の空間的相互作用および、タンパク質分子の機能状態の解析により、細胞の機能の理解を深める新たな知見がもたらされると期待される。