

2014年12月5日

加藤 貴之

第87回日本生化学会年会フォーラム

「生化学研究における電子顕微鏡技術の最前線」報告記

第87回日本生化学会大会において、名古屋大学の成田さん、本間さんの呼びかけにより“生化学研究における電子顕微鏡技術の最前線”というタイトルで、フォーラムが2014年10月16日の2時より京都国際会議場にて開催されました。このフォーラムの演者6人は、オーガナイザーの成田さんを含め、低温電子顕微鏡を用いた構造解析の日本を代表する研究者で、電子線結晶学、単粒子像解析、電子線トモグラフィー、CEMOVISという電子顕微鏡を使った構造解析のすべての技術を網羅する内容で、オーガナイザーの優れた手腕が光るフォーラムでした。今回の発表が生化学の分野の人たちが電子顕微鏡を用いた構造解析技術を使って新たな分野に踏み込む礎になればと願うばかりです。

今回のフォーラムは生化学会においてタンパク質の構造解析は主流ではないのと、ポスターセッションと同じ時間帯で開催されるという不利な条件が重なったため、参加者がほとんどいないのではないかと懸念されたが、うれしいことに会場は多くの参加者によって埋められていました。発表はすべて英語と決められていましたが、冒頭で本間さんが“日本語でもいいんじゃない？”と発言があり、場の雰囲気が和んだ場面もありました。最終的には全員英語で発表され、その結果、この報告記に多分の間違いが含まれる可能性があります、その場合は僕の英語力のなさを笑っていただくとともに、ご容赦頂けると嬉しいです。



講演者の皆さん。上段左から、加藤、米倉、岩崎、Wolf、下段左から、吉川、成田、本間(敬称略)

“はじめに” 成田哲博（名古屋大学）

まず最初に成田さんから“はじめに”ということで、このフォーラムの主旨と、演者の紹介、電子顕微鏡による構造解析の今後の発展についての話があり、各演者の発表に続きました。

“Cryo-Electron Microscopy for Viruses”

Matthias Wolf（沖縄科学技術大学院大学）

最初の演者は沖縄科学技術大学院の Matthias 博士で、クライオ電子顕微鏡を用いたウィルス粒子の構造解析についての発表でした。正 20 面体のウィルス粒子であるパピローマウィルスの構造を単粒子像解析法によって解析したもので、近年の構造解析の例にもれず 4Å を超える高分解能での構造解析に成功していました。その高い分解能によって主鎖だけでなく側鎖まできれいに可視化され、S-S 結合の位置まで同定されていました。高い分解能の結果だけあって、非常に細かいディスカッションをされていました。パピローマウィルスは子宮頸がんなどのがん発生に関わることが知られており、医学分野でも注目されるウィルスです。この結果は新しい薬の創生に寄与するかもしれない興味深い結果でした。

“薄い蛋白質結晶の電子線結晶構造解析”

米倉 功治（理化学研究所）

次は理研の米倉博士で、Ca⁺-ATPase とカタラーゼの薄い 3 次元結晶を用いた電子線回折法による構造解析についてでした。解析結果は極めて高分解能な解析に成功しており、特筆すべきは側鎖が可視化できているほどの高分解能というだけではなくプロトネーションまで可視化されている点です。試料の pH を変化させてヒスチジンのプロトネーションを変化させ、それを電子線回折法によって解析した結果、明らかにプロトン化されたヒスチジンの密度の方が高い密度で観察されていました。X 線はその原子の電子密度の大きさに比例してシグナルの強度が異なるため、電子密度の低いプロトンは可視化しにくいですが、電子線は電子の散乱断面積に依存してシグナルの強度が異なるため、プロトンであっても十分に可視化することが可能です。米倉博士の解析結果はまさに電子線回折の利点を最大限に生かした結果と言えます。

“飢餓的ストレス下におけるリボソームの構造解析”

加藤 貴之（大阪大学）

次はこの報告記の筆者でもある阪大・生命機能研の加藤で、リボソームの構造を単粒子像解析で解析したという話でした。バクテリアは飢餓的ストレス下では、リボソームの 2 量体である 100S リボソームを作成し、タンパク質合成を抑制します。大腸菌と黄色ブドウ球菌の 100S リボソームの構造を単粒子像解析法によって解析したところ、どちらも 70S の 2 量体であるにもかかわらず、リボソームの結合様式が全く異なっていることを明らかにしました。電子顕微鏡の技術的な話や理論的な話より生化学会の人たちは受けがいいと思ってこのテーマにしましたが、ややうけどまりでした。次はもう少し皆さんが興味を持つ

てくれる話にしたいと思います。

“分子構造情報を得るための電顕イメージング法”

岩崎 憲治（大阪大学）

4番目は運動マシナリーでもおなじみの阪大・タンパク研の岩崎博士で、ミドリムシの光驚動反応の関わる細胞器官の構造について、Cryo-Electron Microscopy Vitreous Sections (CEMOVIS)を用いたトモグラフィーによる構造解析についてでした。ミドリムシの光驚反応に関わるPFBと呼ばれる細胞小器官から、PACというタンパク質を精製し、その構造を単粒子像解析で解析し、4量体であることを明らかにしました。また、PFBはCEMOVISを使って細胞内にある状態のまま構造解析をし、大きなドメインが規則的に並んでいる構造が観察されました。そこに単粒子像解析法で解析された4量体モデルを当てはめたところ、その規則配列のドメインにその4量体が綺麗に当てはまっており、PACの4量体が規則配列を形成していることが明らかになりました。日本のクライオ電子顕微鏡の研究者は非常に少なく、中でもCEMOVISを使った構造解析ができる研究者はほとんど皆無に近い状況です。岩崎博士は日本でほぼ唯一のCEMOVISを使った構造解析ができる研究者であるため、その話が聞けるのは非常に貴重な機会と言えます。

“クライオ電子顕微鏡による真核生物鞭毛のタンパク質3次元地図”

吉川 雅英（東京大学）

最後は東大・医学部の吉川博士で、クラミドモナスの鞭毛の構造を電子線トモグラフィーで解析するというものでした。クラミドモナスの鞭毛には、96 nmの繰り返し周期が存在しており、今回新たに発見したタンパク質複合体は、その周期性を決定しているものさしの役割を果たすことが示唆された。発表の中では、そのものさしタンパク質のN末を長くすると、それに伴って鞭毛の中の周期が長くなっている様子が電子線トモグラフィーで解析されており、ものさしとしての役割が明確に示されていました。結果以上に驚いたのはこの実験テーマは開始からわずか半年でScienceに載るという極めて生産性の高い実験だったことです。実験開始の計画と実験方法が優れているのだからと感心するばかりです。あやかりたいものです。

近年、クライオ電子顕微鏡を用いた構造解析、特に単粒子像解析法で革命と言ってもいいレベルの分解能の劇的な改善が見られました。それは電子顕微鏡像を観察するための新しいカメラが開発によるブレークスルーです。今までのカメラは電子線を一度可視光に変換して、それをカメラで撮影し再び電子化（デジタル化）するという方法をとっていました。これではロスも多く、非常に大きなボケが生まれていました。そこで、電子をそのまま取り込んでデジタル化しようという方針で開発されたのがダイレクトディテクターと呼ばれる新しいカメラです。ダイレクトディテクターは従来のカメラよりも感度が高く、ボケが少なく、スピードは速いという優れた特徴があります。特にスピードは重要で、クライオ電子顕微鏡用のサンプルは電子線を当てると氷が変形して、中に閉じ込められた分子が動き出す現象が確認

されており、優れたカメラで撮影しても“手ぶれ”状態でしか撮影できませんでした。これが電子顕微鏡の構造解析における分解能を制限している主たる要因と言われてきました。しかし、ダイレクトディテクターはその速さを生かし、分子の動きを細かく撮影し、画像解析で修正することで“手ぶれ補正”のような機能を使うことができます。これによって改善した分解能は X 線結晶構造解析に迫る勢いです。結晶化の手間がなく、大きな複合体のままの構造解析ができるとあって、全世界的に X 線結晶構造解析をしていた人達をはじめ、多くの研究者が電子顕微鏡による構造解析に興味を持っている状況です。オランダでは外注で構造解析を行うセンターができており、最近はその電子顕微鏡を使った構造解析の結果を有名な雑誌でよく目にするようになりました。日本でそのようなセンターを作るという潮流があるということはまだ感じることはありませんが、早い段階でその波に乗って、日本の数か所にそのようなセンターができたら構造解析に分野は一気に発展すると期待できます。そうすれば僕の次の職も安泰なんですけど、期待を込めて筆をおきたいと思います。ありがとうございました。