

重合体フィラメントの動的構造多型と結合タンパクの協同的結合の構造機能相関の解明



す かわ みつ ひろ
須 河 光 弘

原核生物の細胞骨格を担うFtsZやMreB、そして真核生物の細胞骨格を担うアクチン、チューブリンなどを要素とする重合体フィラメントは、生体超分子の特徴(酵素反応, 分子間相互作用, 構造変化, 塩濃度など環境依存性など)を端的に表します。とくにアクチンは、アクチン結合タンパクのコフィリンやミオシンがF-アクチンへ協同的に結合する現象(協同的結合)が知られています。このメカニズムとして、次のようなモデルが提唱されています:アクチンモノマーにはアクチン結合タンパクとの親和性が相対的に高い構造と低い構造があり(構造多型性),アクチン結合タンパクが結合すると隣のアクチンモノマーの構造が親和性の高い構造へと遷移(構造変化の伝播)し、正のフィードバックが働き親和性が増す(協同的結合)。つまり、重合体フィラメントの構造は均一かつ静的ではなく、不均一で動的にゆらいでおり、これが機能と関係していることが示唆されています。一方、F-アクチンの分子構造が原子レベルで解かれ、GF変換においてモノマーの分子構造が捻じれること、さらにコフィリン結合により捻じれの角度が変化することなどから、この分子構造の捻じれは機能と密接に関係すると考えられています。次の課題は、溶液中でのF-アクチンの構造の捻じれを1分子レベルで捉えることで協同的結合との構造機能相関を実証し、さ

らにライブセルイメージングにより細胞内における細胞骨格の構造ダイナミクスをイメージングすることだと考えています。しかし、従来の1分子蛍光計測法では、溶液中における構造のねじれ(角度変化)を捉えることは困難です。そこで、FRETを利用した蛍光偏光計測(polarized FRET measurement, pFRET計測)を考案しました。ドナーとアクセプターが偏光している場合、FRETは2つの双極子の相対角度にも依存します。つまり、ドナーはアクセプターに対する偏光した光源とみなせますので、言わば偏光した光源を生体分子に直接装着したようなものです。よって、pFRET計測を用いれば、溶液中を自由回転拡散している生体分子であっても、構造のねじれ(角度変化)を捉えることが可能となります。このpFRET計測を用いて、溶液中におけるF-アクチンの構造状態間遷移や、アクチン結合タンパクが結合したアクチンにどのような構造変化が起きているのかを捉えます。これにより結晶解析などから得られる静的な分子構造モデルとの対応を検証することができます。さらに、単分子スペクトル観察法とpFRET計測を組み合わせることで、細胞内でのF-アクチン構造の時空間ダイナミクスのイメージングを目指します。また、原核生物の細胞骨格タンパクへ応用していきたいと考えています。

研究のキーワード：1分子計測, 細胞骨格, 構造機能相関
研究室HPのURL：なし