

ミドリムシにおける走光性制御マシナリーの解明


 いわさき けんじ
 岩崎 憲治

本研究の目的は、主としてクライオ電子顕微鏡法を使用してミドリムシの運動調節機構である光感受性装置の機構解明に挑むことである。ミドリムシの光応答は行動レベルで大きく3つに分けられる。そのうち光驚動反応と呼ばれるものは、さらに光強度が急に強くなった場合(ステップアップ驚動反応)と、急に弱くなった場合(ステップダウン驚動反応)に分かれる。このステップアップ驚動反応においてPFBと呼ばれる器官が重要な役割を果たしていることがわかっている。ミドリムシ光感受性器官PFBからフラビンタンパク質PACの単離に成功した伊関・渡辺博士らと共同で、この低分解能構造を電子顕微鏡で決定することに成功し、さらにホモロジーモデリングと併せてその四量体構造を明らかにした。加えて、クライオ電子顕微鏡の最新技術であるCEMOVIS法を使い、フラビンタンパク質を単離した細胞内器官PFBの構造をin situで明らかにした。しかし、光応答に関するPAC分子のメカニズムは、その原子構造がわかっていないため謎のままであり、さらに如何にPACからのシグナルが驚動と呼ばれる行動レベルの大きな変化につながるのかもわかっていない。このことを踏まえ、本公募研究では、以下の三点を目的として実施する。第一は、PAC一分子における原子レベルでの青色光によるアデニル酸シクラーゼ活性化機構を解

明することである。フラビン結合ドメイン(BLUFドメイン)への青色光の吸収から、アデニル酸シクラーゼ触媒領域の調節が如何に行われるかをクライオ電顕を中心に用いて明らかにする。第二の目的は、PFB全体の三次元構造を原子レベルで決定することである。現在投稿中のデータは切片の観察に基づいたモデルのため決定的とは言い難い。電子線トモグラフィ法や電子線結晶解析を適用することで、PAC四量体のPFBにおける三次元の配列を明らかにする。得られた結果と結晶構造を組み合わせることで、原子レベルから光センサー器官構造全体を解明する。これを目的とする理由は、PACが生体内で周期構造、つまり結晶構造を形成している理由の解明を目指していることにある。申請者らは、PACが結晶構造を形成することで、入射光の異なる二方向の電気ベクトルを検知する仕組み備えていると予測している。本仮説の証明にはPAC一分子の原子構造とPFB全体におけるその配向の解明が必要である。さらに、PFBの細胞軸に対する配向がわかれば、これまで偏光を使用して調べられていたミドリムシの行動レベルでの二色性応答の仕組み解明に寄与できる。これが、第三に明らかにしたい点である。光応答の原子レベルでの機構解明を個体レベルの現象に結びつけることがその目標である。

研究のキーワード：電子顕微鏡，ミドリムシ，光センサー，単粒子解析

研究室HPのURL：<http://www.protein.osaka-u.ac.jp/rcsfp/synthesis/em/iwasaki.html>