

- 課題名 「 細胞分子複合体構造解析用極低温電顕の開発 」
- 代表者名 「 藤吉 好則 」
- 提案機関名 「 京都大学 」

研究の目標・概要

1. 共同研究の主旨

- ・ポストゲノム科学の課題として、X線結晶解析法やNMR構造解析法が生体高分子の立体構造を高速に解析しつつあるが、複雑な生体高分子複合体や膜蛋白質等の機能状態を解析することは、その重要性にもかかわらず後に残された問題となっている。本研究課題では、機能状態を直接観察できる極低温電子顕微鏡法の特徴を生かし、生命科学にとって重要で困難な問題を解明するために、研究分野は異にしているが機能構造の解析を目指すという点で共通の問題意識を有する2つの研究グループ（京都大学と大阪大学）が、新しい極低温電子顕微鏡システムと構造解析技術の開発を目指して共同研究を行う。

2. 目標

3年後の目標

- 生体高分子複合体の機能構造を解析する傾斜機構付き極低温電子顕微鏡システムを開発する
- 神経細胞や生体ナノマシンの構造研究のための試料作製、データ収集、構造解析技術を開発する
- 実際に神経細胞や生体ナノマシンにかかわる蛋白質複合体等の構造を解析する

3. 内容

- ・新しい試料傾斜機構（SETシステム）付き極低温電子顕微鏡を、これまでに独自に開発してきた極低温電子顕微鏡を改変して開発する。

4. 共同研究体制

- ・2つのグループ（京大と阪大）ではそれぞれの生物学の問題を解決する装置開発の設計を共同で行い、日本電子が実際の製造開発、そして改良を担当する。試作された装置を用いて、両大学のそれぞれの試料について性能検査と実際の構造解析を行うことにより、さらに高い性能と操作性を有する装置を開発する。また、当該技術の教育も新しい分野創成のために協力して行う。

研究開発の現状等

1. 現状

電子線結晶学はイギリスで開発されたが、まだ多くの解析結果がでるところまでは至っていない。単粒子解析は米国で盛んに行われていて、世界的にも研究者は多い。ただし分解能は非常に低いのが現状である。電子線トモグラフィーは、ドイツMax Planck研究所のBoumaisterらが電子線トモグラフィーを用いて細胞内構造を立体的に解析した（*Science*, 298, 1209-1213 (2002)）。ただし、彼らの結果は分解能が低く生物学的に重要な知見を得るところまでは至っていない。

2. 我が国の水準

電子線を用いた立体構造解析について、我が国は最高水準にあるといえる。特に、我々が開発した極低温電子顕微鏡が高い分解能の解析を可能にした。膜蛋白質、特にチャネルや受容体の構造解析が我々を中心に進んでおり、世界のトップランナーの一員である。トモグラフィーについては、Boumaisterグループ（Max Planck研究所）が最も進んでいる。Co-LET法とIBSAは我々が独自に開発しているもので、世界のどこでも行われていない。

研究の進展・成果がもたらす利点

1. 世界との水準の関係

極低温電子顕微鏡の開発や膜蛋白質とモーター蛋白質の構造研究は、これまでも世界的にトップを走っている。もし、この新しい傾斜機構付き極低温電子顕微鏡が開発できれば、これまで、不可能であった膜蛋白質の立体構造が解析されるのみならず、細胞内の小器官や蛋白質複合体の構造をnm分解能で解析できるようになる予定である。

2. 波及効果

- ・これまでに困難であった膜蛋白質やその複合体、それに複雑なモーター蛋白質複合体などの構造が解析できるようになるのみならず、細胞内でのこれらの分布や局在の状態を解析できる。それにより、基礎生物学はもとより、創薬やバイオナノデバイスなどの応用分野での有力な研究手段となるであろう。また、極低温電子顕微鏡システムは1台数億円するが、国内外で100台以上の市場となる可能性がある。
- ・このシステムで開発する極低温ステージの技術や、コンピュータプログラムは汎用性のある技術であり、最終のシステムとして本プロジェクトで開発する極低温電子顕微鏡以外にも活用が期待される。

実施体制

- 課題名 「細胞分子複合体構造解析用極低温電顕の開発」
- 代表者名 「藤吉 好則」
- 提案機関名 「京都大学」

京都大学大学院理学研究科（提案機関）

主な役割分担

- 極低温電顕開発による神経情報伝達機構に関する研究
- ・試料傾斜機構 (SET システム) 付き極低温電子顕微鏡の開発
 - ・極低温電子顕微鏡制御用プログラムの開発
 - ・トモグラフィーによる画像解析システムの開発
 - ・IBSA (Image Based Structure Analysis) の開発

現有施設

- ・動物細胞培養実験室
- ・低温実験室
- ・極低温電子顕微鏡
- ・透過型電子顕微鏡
- ・光学顕微鏡実験設備
- ・構造解析用コンピュータシステム
- ・単粒子解析法による蛋白質複合体結晶化実験機器類

固有の研究技術/システム

- ・極低温電子顕微鏡開発技術（日本電子と共同開発）
- ・膜蛋白質精製技術
- ・電子線結晶学を用いた立体構造解析技術
- ・単粒子解析法による蛋白質複合体立体構造解析技術

技術と情報の開示

大阪大学大学院生命機能研究科（共同研究機関）

主な役割分担

- 極低温電子顕微鏡による生体ナノマシン構造解析に関する研究
- ・試料傾斜機構 (SET システム) 付き極低温電子顕微鏡の開発
 - ・極低温電子顕微鏡観察に適した超分子試料調整法の確立
 - ・再現性の高い急速凍結試料作成法の開発と確率
 - ・超分子の高分解能立体構造解析用画像解析プログラムの開発

現有施設

- ・蛋白質大量発現・精製システム
- ・蛋白質分子質量分析装置
- ・蛋白質分子間相互作用解析用の分析超遠心機
- ・極低温電子顕微鏡
- ・電子分光型低温電子顕微鏡
- ・蛋白質結晶化実験設備
- ・高輝度 X 線発生器および X 線回折データ収集装置
- ・光学顕微ナノ計測装置
- ・光学顕微鏡設備

固有の研究技術/システム

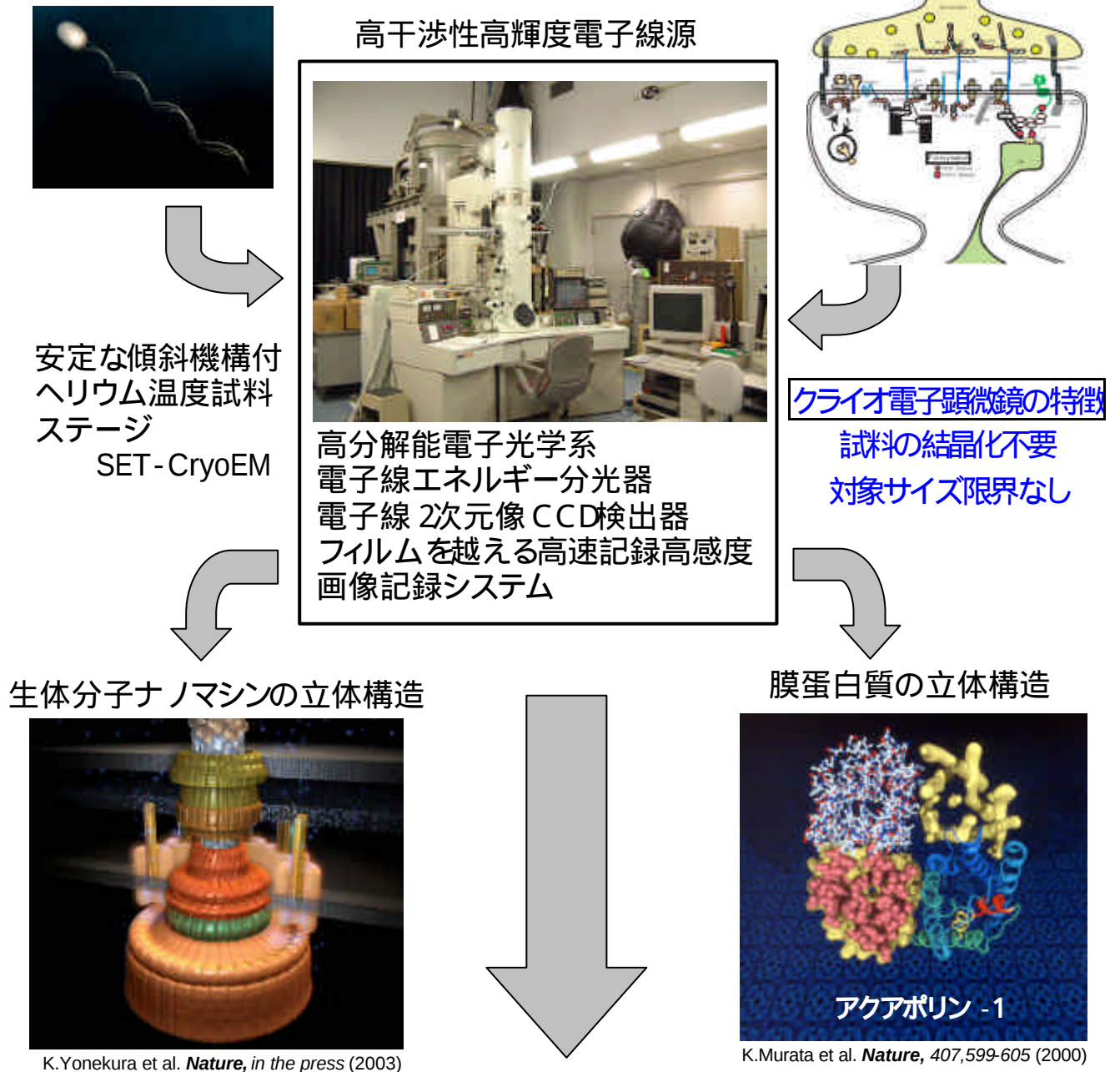
- ・極低温電子顕微鏡像の高分解能画像解析技術
- ・極低温電子顕微鏡による超分子立体構造解析技術
- ・X 線結晶解析法による超分子構成蛋白質の立体構造解析技術
- ・X 線繊維回折法による繊維状超分子立体構造解析技術
- ・超分子ナノマシンの大量発現・精製技術

課題説明

- 課題名 「細胞分子複合体構造解析用極低温電顕の開発」
- 代表者名 「藤吉 好則」
- 提案機関名 「京都大学」

膜蛋白質生体ナノマシンの立体構造解析

この解析は神経科学やバイオナノテクノロジーの基盤となるものである



K.Yonekura et al. *Nature*, in the press (2003)

K.Murata et al. *Nature*, 407,599-605 (2000)

創薬の基盤となる膜蛋白質の構造情報取得。
バイオナノテクノロジーの基盤となる生体分子
ナノマシンの超微細立体構造を高速解析。

創薬への応用。
ナノデバイス
設計と構築。