



Title	Structure analysis of self-assembly molecules
Author(s)	岩崎, 憲治
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.11501/3144061">https://doi.org/10.11501/3144061</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	岩 崎 憲 治
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	第 1 3 9 6 8 号
学 位 授 与 年 月 日	平成10年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 基礎工学研究科物理系専攻
学 位 論 文 名	Structure analysis of self-assembly molecules (自己集合タンパク分子の構造解析)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 柳 田 敏 雄  (副査) 教 授 葛 西 道 生    教 授 村 上 富 士 夫

### 論 文 内 容 の 要 旨

自己集合タンパク分子のなかには、リボソームのようなタンパク質合成をおこなう複雑な巨大分子から、ウイルスのキャプシドのように正二十面体構造をつくるものまで、様々に存在する。また、細胞自身の集合もタンパク質どうしの会合によって支えられていることが知られている。このような会合は、タンパク質分子一つ一つの構造に依存しており、自己集合のメカニズムを知るためには、一分子の立体構造に関する情報が必要不可欠である。こうした知見から、<sup>\*</sup>2種類のタンパク質の立体構造が、調べられた。

その一つは、インテグリン $\alpha$  I Ib  $\beta$ 3で、血小板に多く存在し、フィブリノーゲンを介して血小板どうしを凝集させるのに機能している。ネガティブ染色した $\alpha$  I Ib  $\beta$ 3の電顕写真から、simple-back projectionのアルゴリズムを用いて立体構造を得た。3つの特徴的な構造が見られ、そのうちの一つは、フィブリノーゲンとの結合部位に含まれることが、示唆された。

次に、同種のタンパク質の自己集合例としてウイルスのキャプシドが調べられた。イネ萎縮ウイルス (RDV)は、二重の殻に包まれた正二十面体構造をしており、その外殻は、P8と呼ばれるキャプシドタンパクによって主に構成されている。本実験では、P8から、チューブ状の結晶を得ることに成功したので、このチューブ状結晶を氷包埋した試料を液体ヘリウムステージを備えた電子顕微鏡で撮影した。得られた電顕像から、チューブのらせん性を用いて三次元再構成を行った。9Å分解能の立体構造にP8の3量体から成るキャプソメアの構造が、鮮明に観察されたのでこの部分について3回軸対称性を用いて平均化をおこなった。得られた3量体の立体構造の高電子密度図から、主に5種類のドメインが観察された。ウイルスの感染過程で機能していると推測できる部分は、広い範囲に渡って高い電子密度を示しており、P8が2次構造予測で高い $\beta$ -シート含有量を示していることから、この部分には、多くの $\beta$ -シートが含まれると推測された。一方、3量体間の相互作用部位分には、棒状の形が、3本存在し、3回軸に対して約30°傾斜していた。それらは、 $\alpha$ -ヘリックスであることが、推測された。同じタンパク質から正二十面体とチューブという異なった構造が形成されるのは、3量体間の配向の違いによると思われる。

## 論文審査の結果の要旨

数多くの自己集合タンパク質が知られているが、立体構造から、そのメカニズムを説明した論文は、多くはない。本論文は、集合体の構造の情報は、基本的にタンパク質1分子に存在するという観点から、微量のタンパク質およびチューブ状結晶を電子顕微鏡を用いて解析している。

本論文の内容は、大きく2つに分けられる。まず、第1章では、血小板を凝集させるのに機能していることで知られているインテグリン $\alpha_{IIb}\beta_3$ の1分子の構造をsimple-back projectionの手法を用いて解析している $\alpha_{IIb}\beta_3$ は、ごく微量しか、精製できず、結晶化をおこなうには、不十分で、電顕の特性をいかし妥当な手法を用いて、3次元の構造を初めて得ている。また、立体再構成された個々の $\alpha_{IIb}\beta_3$ を重ねると、非常によくそれぞれの分子の形が、3次元レベルで一致するという結果を得ている。このことは、これまで言われてきているように $\alpha_{IIb}\beta_3$ が柔軟な構造ではなく、一定の構造を保っていることを示している。また、 $\alpha_{IIb}\beta_3$ は、球状の頭部とそこに棒状の足が二本生えた形をしており、それぞれの足は、別々のサブユニットに属することが知られていたが、今回、初めて、足の立体構造の違いから、サブユニットへの帰属を試みている。また、頭部に、投影像では観察されなかった特徴的な構造が認められている。つぎに第2章では、自己集合タンパク質のもっとも代表的なものである、ウイルスのキャプシドタンパク質をチューブ状結晶化し、氷包埋した試料をヘリウムステージを備えた低温電子顕微鏡で撮影し、そのらせん性を用いて3次元再構成を行い、初めて9オングストロームという高分解能の構造を得ている。このP8と呼ばれるキャプシドタンパク質は、3量体を単位として、ウイルスの最も外側の殻を $T=13$ に従って形成することが知られているが、このチューブ状結晶においても局部的には、ウイルスの表面と同じ並びかたをしており、ウイルス粒子のもつチャンネルに相当する構造が観察されている。また、隣り合う3量体どうしは、ちょうどプロペラのように互いにねじれており、チューブ状結晶を形成するために必要な配置であると述べているが、このことは、これまで他のウイルスの構造タンパク質で観察されてきた、チューブと正二十面体のあいだの多形変換の仕組みを解明するための重要な証拠となる。次にこの3量体部分を切り出し、3回軸対称性を用いてさらに高分解能の構造を得ている。この際、X線構造解析用につくられたプログラムを組み合わせ非結晶学的対称性を使った電子密度の平均化のためのプログラムを独自に開発している。これは、イメージのみから3次元再構成するときに有用で一般的に使えるものである。こうして得られた3量体の構造には、6種類のドメイン構造が、観察されており、そのうちの一つは、 $\alpha$ -ヘリックスを示唆する構造をとっている。

このように電子顕微鏡写真のイメージのみからの3次元再構成は、3次元結晶化の難しいタンパク質の構造解析に適切であり、ヘリウムステージの電子顕微鏡の開発とともに2次構造が観察されるまでになってきた。本研究は、この手法を自己集合タンパク質に適用することで、1分子の3次元構造を得ている。こうした試みの成果により、本論文は博士学位論文として価値あるものと認める。