



● 生体超分子の立体構造解析を行うために

公募 A 班 川上 恵典

「X線結晶構造解析は、生体超分子の立体構造を詳細に解析できる唯一の手法である」というフレーズを、私は学生時代に研究の申請書類によく書いてきた。2000年代に入り、天然の光合成関連膜蛋白質の立体構造が X線結晶構造解析によって徐々に解析されだした[1-4]。その一方で、結晶が析出しない、もしくは結晶の品質が向上しない生体超分子の詳細な構造研究については、手つかずの状態が長らく続いていた。近年、電子顕微鏡研究に関わる多くの研究者の長年の努力によって、クライオ電子顕微鏡による単粒子構造解析が、生体超分子内のアミノ酸の側鎖・リガンド・水分子などの配置を同定できる精度にまで到達した。

「結晶要らずで生体超分子の詳細構造が解ける！」ということで、単粒子構造解析が世界的に注目され、生体超分子の立体構造を調べる手法として一般化されつつある。むしろ、今後蛋白質の X線結晶構造解析をやってみようとする若手研究者・学生が減ってしまいうように強く感じている（すでにそうなっている？）。

私は、元々は蛋白質構造研究を進めるために結晶の分解能向上研究を延々と続けてきた人間であるが、最近ひょんなことから単粒子構造解析を進める機会を得て、多くの微細藻類がもつ水溶性アンテナ蛋白質の構造研究を進めている。フィコビリソーム (PBS) と呼ばれる巨大な光捕集アンテナ蛋白質は、光化学系蛋白質群 (PSI と PSII) と相互作用し、吸収した太陽光エネルギーを高効率に PSI と PSII に伝達している。

私自身で単粒子構造解析を始めて驚異的だと感じたのは、「単粒子構造解析は、結晶を作らずして 3.0 Å 分解能を超える密度マップを得ることができる」、という点である[5]。結晶作製・分解能向上作業を行わずに、溶液状態で目的試料の密度マップを高精度で得て、その構造精密化を行える時代になってしまったのだと、痛烈に感じている。

しかし、「では単粒子構造解析は万能な解析手法なのか？」と言うと、現状そうではないと私は捉えている。多くの問題が実のところあるのだが、その中でも

2つの大きな問題があると考えている。1つ目の問題は、画像撮影時の「バッファ組成問題」である。解析したい生体試料の多くは、試料調製時に高濃度の安定化剤（スクロースやグリセリンなど）を添加している。このような安定化剤濃度で電子顕微鏡撮影用のグリッドを作製してしまうと、グリッド内の氷薄膜の厚みが増してしまい、電子線が透過しない。逆に撮影のために安定化剤濃度を低くしてしまうと、コントラストの良い画像は得られるが、試料の一部が解離してしまうなどのジレンマがある。そして単粒子構造解析の分解能は、目的試料の構造安定性だけでなくグリッド上の氷薄膜の厚さにも大きく依存する。このため、まずは「目的試料の構造維持ができ、かつベストな撮影を行うことができるバッファ組成とグリッド作製条件」を探索する必要がある。

2つ目の問題は、「電子線照射による試料へのダメージ（放射線損傷問題）」である。X線結晶構造解析での放射線損傷問題は、特に PSII の酸素発生触媒 Mn_4CaO_5 クラスターの構造変化が例として挙げられる[6]。一方の単粒子構造解析は、X線結晶構造解析に比べて放射線損傷問題（特に原子間距離の変化）への対応・議論がまだ十分にできていないように感じられる。これらの問題は、今後多くの研究者によって議論・改善されていくと思われる。しかし、生体超分子の立体構造を解析するにあたって、その解析手法の長所だけでなく短所についても把握し、検討を繰り返しながら研究を進めて行く必要がある。

References

1. Jordan et al., *Nature*, 2001.
2. Zouni et al., *Nature*, 2001.
3. Umena et al., *Nature*, 2011.
4. Suga et al., *Nature*, 2015.
5. Hamaguchi et al., *Research Square*, 2020. DOI: 10.21203/rs.3.rs-56211/v1.
6. Glöckner et al., *J. Biol. Chem.*, 2013.

新学術領域「革新的光物質変換」ニュースレター
 第3巻・第11号（通算第35号）令和2年11月1日発行
 発行責任者：沈 建仁（岡山大学 異分野基礎科学研究所）
 編集責任者：八木政行（新潟大学 自然科学系）
<http://photoenergy-conv.net/>