2M1615

アクチン溶液中に形成される微小結晶状粒子の超高分解顕微鏡回折像

○一海 孝光¹、有井 達夫² (¹ 愛知県立芸術大学、² 国立岡崎生理学研究所)

低い塩濃度の緩衝液中のアクチンモノマーに、モル比で過剰な ATP を加えると重合が生じる。電子顕微鏡像からこのとき短いフィラメントが形成されることがわかる (1)。このフィラメントは結晶状の会合体をつくるが、今回はこの結晶状粒子が示す電子線回折像を観察した。微小粒子は 1 ～数ミクロン程度の大きさであった。PIA でアクチンを蛍光標識し、結晶状粒子を形成する前のアクチンは重合していることを確認した。これらの結晶状粒子からは 4.2 オングストロームの格子定数の回折斑点が観察されたが、この回折は報告されているアクチンのモノマーの α -helix の部分による反射に相当している。14.2 ～ 23.0 オングストロームの反射も見られた。ところで、モノマーの回折像に相当する 50 オングストローム程度の格子定数の反射は観察しにくかった。この結晶状粒子がアクチンの微小結晶であるとなると、分子に結合する水のためにアクチンモノマーの周辺部の原子で電子線照射による損傷がおきやすいのかどうか、その他の可能性も含め検討中である。1. Ikkai, T. and Kondoh, H. IUBMB Life 49, 77-79. (2000)

Ikkai, T. and Arai, T. : Diffraction Patterns by High Voltage Electron Microscopy of Microcrystalline Particles Formed in Actin Solutions

3SMB1

細胞質シャペロニン CCT のサブユニット構成比変化を伴うシャペロン機能変化

○久保田 広志 (CREST/JST, 京大再生研, HSP 研)

細胞中の多くの新生蛋白質は、最終構造を形作るまでのフォールディングの過程において、分子シャペロンと呼ばれる一群の蛋白質の助けを必要とする。細胞質シャペロニン CCT は、真核生物の細胞質中でアクチンやチューブリンをはじめとする、複数の蛋白質のフォールディングに必須の分子シャペロンであり、大腸菌の GroEL やミトコンドリア Hsp60 のホモログでもある。CCT がこれらのホモログと最も異なる点は、CCT は 8 種類ものサブユニットからなるヘテロオリゴマーであることである。我々は、これまでに、CCT の哺乳類細胞における発現が、細胞増殖や細胞周期と密接に関係していることを報告してきたが、今回、細胞周期を薬剤で同調させた時の各サブユニットの挙動とシャペロン活性について詳しく調べた。細胞周期に関連して CCT サブユニットの量は増減するが、このとき、特定のサブユニット種の増減が他のサブユニット種よりも早く、その結果として細胞内の CCT サブユニット比が変化した。さらに、この時、各サブユニットは分子量 7 万以上の複合体として検出され、複合体そのもののサブユニット構成比が変化することがわかった。これらのサブユニット構成比の異なる CCT 複合体を用いて、インビトロでのアクチン結合およびフォールディング活性を測定したところ、最大で 10 倍の活性の違いが認められた。また、細胞内の CCT にたいするチューブリンの結合量も、前述のアクチンに対する活性と同じ傾向の結果を示した。高活性の CCT 複合体 (細胞周期 S 期) と低活性のそれ (M 期) との主な違いは、特定のサブユニットの含量の違いであり、また、これらのサブユニットの細胞内での合成と分解の速度が他のサブユニットよりも早いこともわかった。以上の結果は、特定のサブユニット種の含量を調節することで、CCT 複合体がそのシャペロン活性を変化させる能力を持つことを示している。

H. Kubota : Changes in subunit composition and function of cytosolic chaperonin CCT

3SMB0

シャペロニンの作用の分子機構

○河田 康志¹、桑島 邦博² (¹ 鳥取大・工・生物応用、² 東大・院理・物理)

シャペロニンは細胞中のタンパク質フォールディングを介助する分子機械であり、分子から細胞レベルへの生物の進化に伴い必要とされたと考えられる。この数年来、大腸菌のシャペロニン GroEL/ES に引き続き、真核細胞内に存在する CCT と類似している古細菌のサーモソームの結晶構造も明らかとなり、シャペロニンに関する研究はますます盛んになっている。本シンポジウムでは、バクテリア由来の代表的なシャペロニン、GroEL の作用機構の生化学的研究 (元島, 吉田 (東工大)) や一分子イメージング (船津 (早大)) をはじめ、古細菌由来の耐熱性シャペロニン、サーモソームの機能発現 (養王田, 吉田 (東京農工大・海洋研)), さらに高等動物細胞質内のシャペロニン、CCT の分子生物学的研究 (久保田 (京大)) に至るまで、さまざまなタイプのシャペロニンに関する多面的な研究手法による最先端のトピックスを取り上げ討論したい。

Y. Kawata and K. Kuwajima : Molecular mechanism of chaperonin function

3SMB2

古細菌の分子シャペロンシステム

○養王田 正文¹、吉田 尊雄²、大河内 美奈¹、碓井 啓資¹、丸山 正² (¹ 農工大・工・生命工学、² 海洋バイオ研)

細胞内におけるタンパク質の構造形成には種々の分子シャペロンが関与していることが知られている。各分子シャペロンは協調して働いており、全体として分子シャペロンシステムを形成し機能していると考えられている。古細菌 (Archaea) は様々な点で真正細菌 (Eubacteria) と異なっているが、分子シャペロンシステムでも大きな違いがある。真正細菌の分子シャペロンシステムは主に Hsp60 (Group I 型シャペロニンまたは GroE), Hsp70 (DnaK), Hsp104 (ClpB), sHsp (small heat shock protein), PPIase (Peptidyl Prolyl cis-trans Isomerase) などから構成されている。一方、古細菌には Hsp104 が存在せず、シャペロニンも真核生物の細胞質と同じ Group II 型である。特に、最近のゲノム解析の結果から超好熱性古細菌には Hsp70 も存在しないので、Group II 型シャペロニン、sHsp 及び PPIase のみから構成される最も単純な分子シャペロンシステムを有していることが明らかになっている。分子シャペロンシステムの中核であるシャペロニンは上記したように Group I 型と II 型に大別され、真核生物の細胞質や古細菌に存在する Group II 型は Group I 型と構造や機能が異なっている。我々は、この Group II 型シャペロニンを中心とする分子シャペロンシステムのモデルとして、超好熱性古細菌の分子シャペロンシステムに関する研究を進めている。ここでは、Thermococcus 及び Pyrococcus 属の超好熱性古細菌の sHsp, シャペロニン及び最近 Group II 型シャペロニンと協調して機能していることが明らかになった Prefoldin の構造と機能に関する最新の結果について報告する。

M. Yohda, T. Yoshida, M. Okochi, K. Usui, T. Maruyama : Molecular chaperone system of archaea