2023 年度年次報告書
細胞の動的・高次構造体
2022 年度採択研究代表者

草木迫 司

東京大学 大学院理学系研究科
助教

汎用性の高いクライオ CLEM 戦略の確立と有毛細胞の高次構造体の解明

研究成果の概要

蛍光観察と電子顕微鏡観察でそれぞれ得られる画像を相関させる CLEM (correlative light and electron microscopy) は、細胞の高次構造体の局在や分子構成、構造などの情報を得るための有用な手法の一つである。本研究は、蛍光と電子顕微鏡の両方で検出できる CLEM 用プローブの開発を軸に、クライオ CLEM を取り入れた汎用的な高次構造体の観察戦略を確立することを目的とする。更にこの戦略を用いて、内耳有毛細胞の機能を担う高次構造体を可視化することにより、内耳有毛細胞の機能発現の本質的なメカニズム解明を目指す。聴覚や平衡感覚に関わる内耳有毛細胞には不動毛と呼ばれる突起状の領域があり、不動毛では MET チャネル複合体を含む高次構造体の動的なはたらきにより、音や体に加わる加速度によって生じた機械刺激が電気信号へと変換される。有毛細胞の高次構造体をクライオ CLEM およびクライオ電子線トモグラフィ (cryo-ET) によって可視化することで、この巧妙なシグナル変換はどのような分子機構によって実現されているのかという問いにアプローチする。

2023 年度は、有毛細胞の機能の中核を担う MET チャネル複合体の単粒子解析を行い、ポアサブユニットを含むチャネル複合体の構造決定に成功した。これにより、MET チャネル複合体のチャネル開閉機構に関する知見を得るとともに、cryo-ET で得られるトモグラムを対象に template matching を行うための参照構造を取得した。また CLEM 用プローブにより MET チャネル複合体を標識したうえで有毛細胞を観察するために、MET チャネル複合体の構成因子へのタグのノックインを進めた。