

細胞の動的・高次構造体
2021 年度採択研究者

2021 年度 年次報告書

松尾 芳隆

東京大学医科学研究所
准教授

リボソームの交通渋滞を解消するしくみと生理的意義の解明

§ 1. 研究成果の概要

本研究では、リボソームの交通渋滞が解消される様子を一分子レベルで可視化するために、2021 年度は以下の項目を進めた。

1. 高速 AFM による動態解析

1-1: マイカ基板上でのサブユニット解離反応の最適化

試験管内再構成系を基盤に、高速 AFM による動態解析を進めている。2021 年度は、試験管内でリボソームの交通渋滞を形成させ、Hel2 による uS10 のユビキチン化反応まで進行させた多重リボソーム構造体をマイカ基板に固定し、RQT 複合体を添加することでサブユニット解離を誘導させる実験系の構築を試みた。現状では、サブユニット解離の誘導には成功しているが、RQT 複合体の結合からサブユニット解離までの反応過程の可視化には至っていない。

RQT 複合体の結合からサブユニット解離までの反応時間が短く、RQT 複合体を添加した後、カンチレバーをマイカ基板へ再アプローチする間に反応が進行・終了してしまう問題点が浮上している。今後は、この問題を解決する必要がある。

2. Cryo 電子顕微鏡による構造解析

2-1: Hel2 結合型の多重リボソーム構造体の単粒子解析

試験管内の再構成系を用いて Hel2 結合型の衝突リボソームの調整を試みた。既に、クロスリンカーによって架橋した Hel2 結合型の衝突リボソームの調整に成功しており、東北大学の Cryo 電子顕微鏡(CRYO ARM™ 300 II)にて最初の画像データの取得を行なった(本領域の横山武司氏との共同研究)。現在、得られた画像データを基に単粒子解析を進めている。

2-2: RQT 複合体結合型の多重リボソーム構造体の調整

RQT 複合体と衝突リボソームの結合状態を安定に保つ条件を確立し、最終的にクロスリンカーにて RQT 複合体と衝突リボソームを架橋することに成功した。今後は、Cryo 電子顕微鏡による単粒子解析に進む(本領域の横山武司氏との共同研究)。