

論文審査の結果の要旨

氏名 成田 哲博

この論文では、フィラメント結合タンパク質の三次元構造をクライオ電子顕微鏡写真から再構成するための新しい方法の開発と、その方法を用いて初めて明らかにされた、筋肉の細いフィラメント上にあるトロポニンとトロポミオシンの構造変化について述べられている。

細いフィラメントは、アクチンとトロポミオシン、トロポニンから成る。従来は、らせん対称性を仮定した再構成法を用いて細いフィラメントの構造変化が議論されてきた。しかし、トロポニン分子はアクチンフィラメントのらせん対称性に従わないため、らせん対称性を仮定した方法でその構造を解くことはできない。本論文では、トロポニンを含めた細いフィラメントの三次元構造を解くために、逆投影法を用いた新しい画像処理法を開発した。逆投影法をトロポニン、トロポミオシンを含む細いフィラメントに適用するには、まず、第一にフィラメントの軸周りの投影方向を決めること、次に、トロポニン、トロポミオシンのフィラメント軸方向の位置を判別することが必要である。本論文ではこの二つの条件を満たすために二段階に分けて画像処理を行った。

逆投影法を用いた二段階画像処理は以下のようにまとめられる。(1) 最初にアクチン分子ごとに平均化した像を三次元再構成した。この三次元再構成にも逆投影法を用いるが、結果の像はらせん対称性を仮定した方法により得られる像と基本的には変わらない。この像には、アクチン分子ごとに平均化されたトロポニン、トロポミオシンの質量が含まれる。この像を作るときに、電子顕微鏡写真上の細いフィラメントの投影方向が決定される。(2) 上で得られた像から、アクチン分子二分子分だけトロポニン+トロポミオシンの質量成分を残し、他はアクチン成分だけにした像を作成する。この像をトロポニンモデルと呼ぶ。このトロポニンモデルを用いて、電子顕微鏡写真上のトロポニンの位置を決定する。その情報をもとに逆投影法で三次元再構成し、その結果を新たなトロポニンモデルとして、再び電子顕微鏡写真上のトロポニンの位置を決める。これを収束するまで繰り返し、細いフィラメント上のトロポニンの構造を解く。

以上の方法によって、35 Åの分解能でトロポニンを含んだ細いフィラメントの構造が解かれた。

トロポニン頭部は、カルシウムがある状態ではアクチンの内部ドメインの正面に、アクチン表面からやや離れた位置に存在した。トロポニンおよびトロポミオシンと見られる質量は常にアクチンの内部ドメイン上にあった。一方、カルシウムがない状態では、トロポニン頭部はアクチン分子の前面全体にへばりつくように存在していた。また、アクチンのN末端からC末端にかけてアクチン成分ではない質量が細長く伸びており、これをトロポニンIのC末端側であると推論した。トロポニンおよびトロポミオシンと見られる質量のアクチンに

対する位置は、トロポニン頭部の矢じり端側では内部ドメイン上にあるが、反矢じり端側では外部ドメイン上であることもわかった。

以上の結果をもとに、本論文では、カルシウムにより引き起こされる、細いフィラメントの構造変化に関するモデルを構築している。カルシウムがある状態では、トロポニン頭部はトロポミオシンともアクチンとも強く結合しない。トロポミオシン-トロポニンは、主にトロポミオシンによってアクチンと結合し、アクチンの内部ドメインの正面に存在する。カルシウムがない状態では、トロポニンIのC末端側とアクチンのN末端からC末端にかけての領域が結合し、トロポニン頭部がトロポニンIに引っ張られてアクチンの外部ドメイン側に移動する。それに伴い、トロポニン尾部（トロポニンT1）も外部ドメイン側に移動し、トロポニン頭部とトロポニン尾部に結合しているトロポミオシンを引っ張るというモデルである。

本論文は、長年の謎であった、細いフィラメント上のトロポニンの構造変化を初めて捉えたものであり、得られた結果は、筋肉のカルシウム制御の解明に多大な寄与をなすものである。また、今回開発された新しい画像処理法は、細いフィラメント上のトロポニンの構造のみではなく、フィラメント結合タンパク質の構造解析に広く使用することができる。この論文は、安永卓夫氏、若林健之氏、真柳浩太氏、石川尚氏との共同研究であるが、論文提出者が主体となって研究を行ったものであり、審査員一同は同提出者が博士(理学)の学位を授与するのに十分であると判断した。