

## 電子線単粒子解析と X 線結晶解析の融合研究の展望 三尾和弘、小椋俊彦、丸山雄介、佐藤主税（産総研）

我々の体の中では、様々な蛋白質が相互に作用して生理機能を営んでいる。その中には結晶を作製し難いものも存在する。それでも精製さえできれば、結晶を必要としない単粒子解析法を適用できる。この方法では最初に電子顕微鏡により分子を撮影し、その投影像だけから画像情報学技術により 3 次元構造を再構築する。この方法は分解能が限られるため、X 線結晶解析でドメイン構造がわかっていると、相互に組み合わせることで豊富な情報が得られる。Keap1 と IP3 受容体チャネルで解析したので報告したい。

酸化ストレスのセンサーである Keap1 は全体では結晶を形成しないが、DC ドメインのみだと結晶を形成する。そこから、X 線により解析された構造は  $\beta$ -プロペラであった。我々は Keap1 全蛋白構造を解明するために、東北大 山本雅幸教授と共同でタンパク質全体を精製し、負染色して撮影し、さらに単粒子解析を行った。この 2 量体蛋白質は全体としてサクランボ状の形をしていた。その 2 つの房にはそれぞれ中心に小さな穴が上下に貫通しており、これが DC ドメイン  $\beta$ -プロペラの数 Å 径の穴に一致することがわかる。ここから各ドメインに体積を当てはめてゆくと、周囲を取り囲んでいるサクランボの実の膨らみ部分に、酸化ストレスを感知する SH 基が存在して中の DC を制御することが推察された。