

微細構造解析プラットフォームにおける利用成果

バイオイメージング用蛍光性ナノ粒子の開発

^a理化学研究所 生命システム研究センター

坪井 節子, 神 隆^a

【目 的】

プロテインGの免疫グロブリン結合ドメイン(B1)を用いて、抗体-量子ドット(QD)複合体を調製するための簡単な方法を開発した。このアダプタータンパク質は、N末端に6つのヒスチジンタグを有し、CdSe/ZnSおよびCdSeTe/CdS量子ドットを含む。QDと複合体化したHisGB1タンパク質は、B1を介してその表面で抗体に結合する能力を有する。グルタチオン被覆CdSe/ZnS QD(QD600)、およびCdSeTe/CdS QD(QD830)のHisGB1による機能化のために、QDのTEMによる形態観察により抗体-QD複合体を最適化することを目的とした。

【成 果】

試料溶液をカーボングリッド上に滴下することにより、TEM試料を作製して観察した。図1に形態を示すように、平均粒径は、QD600については7nm、QD830については9nmであり、可視発光QD600および近赤外発光QD830を、腫瘍細胞の蛍光イメージングに使用した。

癌動物モデルとしてKPL-4細胞を移植したマウスを使用し、特に、乳房腫瘍のイン・ビボ蛍光イメージングのための抗体-QD複合体の効果を実証するために、生体組織内の光の吸収が小さく透過性が高い近赤外発光のQD830を使用した。図2に示すように、QD830の注射後に乳房腫瘍(直径約8mm)を有するヌードマウスの近赤外蛍光像を計測できた。

以上から、新たに開発した抗体/ HisGB1-QD複合体が、腫瘍イメージング用の分子プローブとして有用であることを示すことができた。

(1) Setsuko Tsuboi, Sasaki, A., Sakata, T., Yasuda, H., and Takashi Jin, Chem. Commun. 53, 9450-9453. 2017.

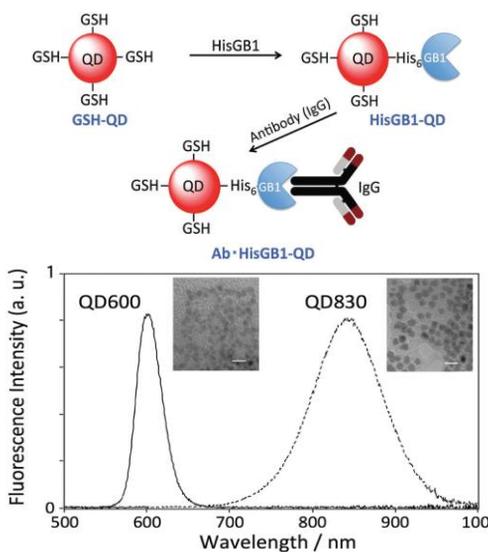


図1. 抗体-量子ドット複合体の模式図、ならびにQD600およびQD830量子ドットの形態と発光スペクトル

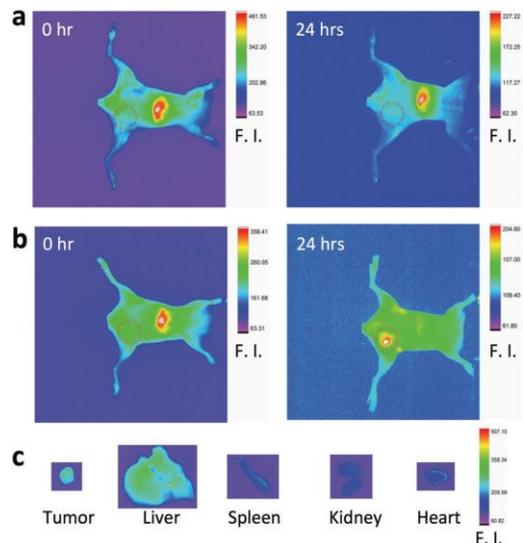


図2. グルタチオン被覆QD、およびHisGB1-QDにより撮影された腫瘍を有するマウスの乳房の近赤外蛍光像と器官の蛍光像

微細構造解析プラットフォームにおける利用成果

液胞型 ATPase の全体構造決定を突破口とした
回転プロトン輸送機構の解明

^a京都産業大学総合生命科学部

横山 謙、中西 温子、岸川 淳一^a

【目 的】

V-ATPaseは生体内でもっとも重要な働きをする膜タンパク質のひとつである。この構造を決めることにより、いまだ明らかにされていないV-ATPaseの分子機構や、V-ATPaseを標的とした薬剤の開発に繋がる情報を得ることができる。V-ATPaseの構造をクライオ電子顕微鏡を用いた単粒子解析により決定することを目的とした。

【成 果】

好熱菌 *Thermus Thermophilus* の細胞膜から精製したV-ATPaseを試料とした。試料台にV-ATPaseを含む溶液を滴下し、液体エタンで急速凍結してアモルファス氷中に包埋する。凍結した状態のままクライオ電子顕微鏡に導入し、5000サンプル程度のV-ATPaseの電子顕微鏡像を撮影した。界面活性剤を含む溶液条件を検討することで、V-ATPaseの一部であるVoV1の明瞭な分子像を撮影可能になった。クライオ電子顕微鏡で撮影されたV-ATPaseの単粒子画像を解析することにより、その高分解能立体構造を構築した。

図1に示すように、画像解析にはプログラムRELIONを利用して、V-ATPaseの単粒子像を抽出し、2Dクラス分けを経て3Dクラス分けをし、最終的には、図2に示すように、3種類の回転状態に対応した構造を得た。

以上から、クライオ電子顕微鏡を用いた単粒子解析により、液胞型ATPaseの全体構造の決定し、構造を精密化することで、部分的には近原子分解能の構造を得ることができた。

(1) Nakanishi A, Kishikawa J, Tamakoshi M, Mitsuoka K, and Yokoyama K., *Nature Communications* 9, Article number: 89 (2018) doi:10.1038/s41467-017-02553-6.

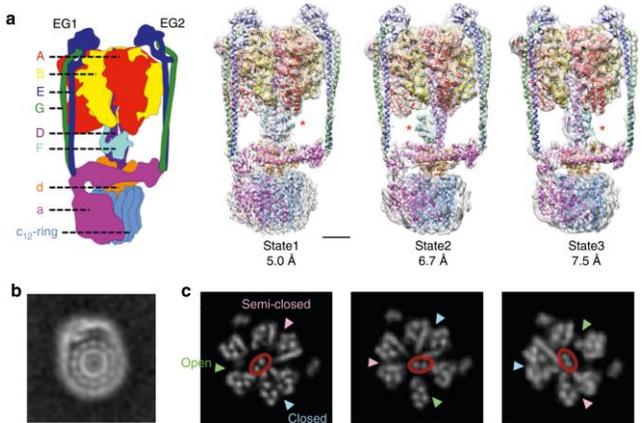
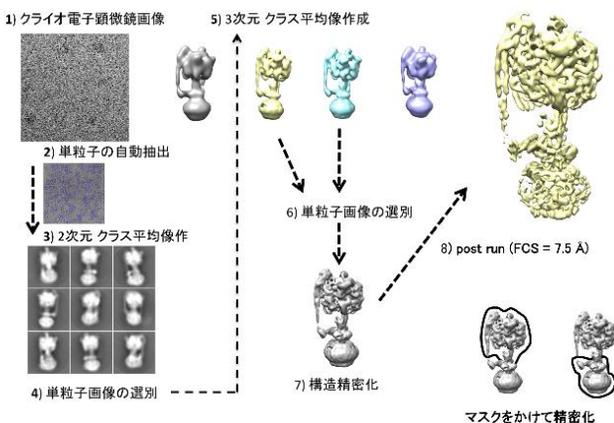


図1. 単粒子解析において、単粒子像を抽出し、2Dクラス分けを経て3Dクラス分けのシーケンスを示す模式図

図2. *T. thermophilus*由来のV/A-ATPアーゼの3つの異なる構造の電子顕微鏡像とその模式図、および3つの回転状態の原子モデル