

高分子構造科学研究室

<スタッフ> 今田勝巳 (教授) 金子文俊 (准教授) 川口辰也 (講師)
竹川宜宏 (助教)

<研究のキーワード>

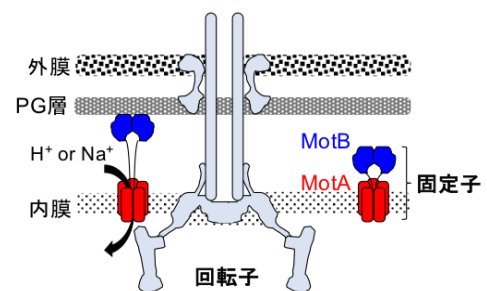
- | | | |
|--------------|-----------|-----------|
| (1) 生体高分子複合体 | (2) 超分子機械 | (3) 細菌べん毛 |
| (4) 分泌輸送装置 | (5) 構造解析 | (6) 中性子散乱 |

<令和4年度の主な研究活動概要>

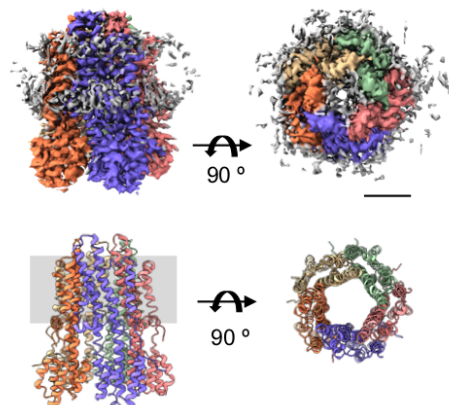
当研究室では、細菌べん毛システムや蛋白質分泌装置の構造・機能解析を中心に生体高分子でできた分子機械の作動原理の研究を行っている。また、合成高分子と低分子の複合体構造と物性を主にX線・中性子回折、赤外分光法により研究している。令和4年度は、(1) 高度好熱菌由来べん毛固定子蛋白質MotAの構造、(2) レジオネラ菌脱ユビキチン化酵素LotAの構造、(3) SANS/FTIR-ATR同時測定システムの開発とその実証試験についての研究を行った。

(1) 高度好熱菌由来べん毛固定子蛋白質 MotA の構造¹

細菌の運動器官であるべん毛の根本には蛋白質でできた直径約 45 ナノメートルの回転モーターがある。モーターは回転子と約 10 個の固定子で構成され、固定子中をイオンが流れると固定子と回転子の相互作用が変化し、回転力が発生する。1つの固定子ユニットは MotA と MotB の 2 種類の膜蛋白質から成る。最近、常温菌の固定子が MotA5-MotB2 で構成されることがクライオ電子顕微鏡を用いて明らかになったが、好熱菌固定子構成蛋白質の低分解能解析では異なる結果が得られていた。そこで、高度好熱菌 *Aquifex aeolicus* 由来 MotA (Aa-MotA) の高分解能構造をクライオ電子顕微鏡を用いて解析したところ、Aa-MotA は常温菌の固定子中の MotA と同様の 5 回回転対称性を持つリング構造を形成しており、MotA 単独で固定子ユニットと同様の複合体系性能を持つことがわかった。また、Aa-MotA の疎水性残基の 5 量体中での分布を調べたところ、サブユニット境界面と膜貫通領域の疎水性が常温菌固定子中の MotA と比べて著しく増加しており、高温環境下で Aa-MotA を安定化していると考えられる。



細菌べん毛モーター

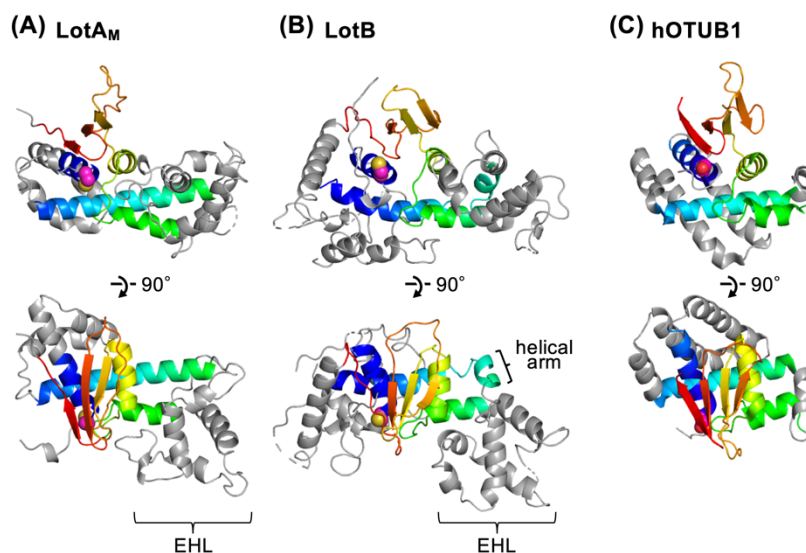


Aa-MotA 5量体の構造

(2) レジオネラ菌脱ユビキチン化酵素 LotA の構造²

肺炎を起こす病原細菌であるレジオネラは、宿主細胞に感染すると宿主ユビキチン反応系をハイジャックし、自身が増殖しやすい環境を作り出す。LotA はレジオネラが宿主細胞内へ分泌する脱ユビキチン化酵素(DUB)で、レジオネラの周囲のユビキチン鎖を除去し、ユビキチンが介在するオートファジーなどの宿主免疫機構からレジオネラを逃す働きを持つ。我々は LotA による脱ユビキチン化機構を解明するため

LotA の middle ドメイン (LotA_M)の X 線結晶構造解析を行い、LotA_M がヒトの DUB (hOTUB1)と構造がよく似たサブドメインとレジオネラの LotB 等に見られる EHL ドメインで構成されることを解明した。また、OTUB1 との構造比較と変異実験からユビキチンの結合部位と活性部位を明らかにした。



(3) SANS/FTIR-ATR 同時測定システムの開発とその実証試験

中性子小角散乱法(SANS)は高分子の高次構造研究に欠かせない強力な手法であるが、多成分系からより確かな構造情報を引き出すために、他の研究手法と組みあわせることが望まれる。既に SANS/赤外分光(FTIR)同時測定システムを開発し、ソフトマター系の構造形成の研究に適用してきた³。この手法をより広範な系に適用できるように、減衰全反射(ATR)法を導入した SANS/FTIR-ATR 同時測定システムを開発し、JRR-3 研究炉に設置されている SANS-J 小角散乱装置を利用して実証試験を行った。このシステムを合成高分子系の結晶化過程やデンプン老化現象に適用し、その有用性を確認した

<参考文献>

- 1.Nishikino, T.; Takekawa, N.; Tran, DP.; Kishikawa, JI.; Hirose, M.; Onoe, S.; Kojima, S.; Homma, M.; Kitao, A.; Kato, T.; Imada K. *Biochem Biophys Res Commun.* **2022**, *631*, 78–85.
- 2.Takekawa, N.; Kubori, T.; Iwai, T.; Nagai, H.; Imada K. *J Bacteriol.* **2022**, *204*, e0037621
- 3.Kaneko, F., Seto, N., Sato, S., Radulescu, A., Schiavone, M. M., Allgaier, J., & Ute, K. (2016). *J. Appl. Cryst.* **2016**, *49*, 1420–1427