

## 電子線構造生物学研究室

<スタッフ> 加藤 貴之 (教授) 高崎 寛子 (助教) 大出 真央 (助教)

<研究のキーワード>

- (1) クライオ電子顕微鏡 (2) 単粒子解析 (3) 電子線トモグラフィー
- (4) 新型コロナウイルス (5) 分子モーター

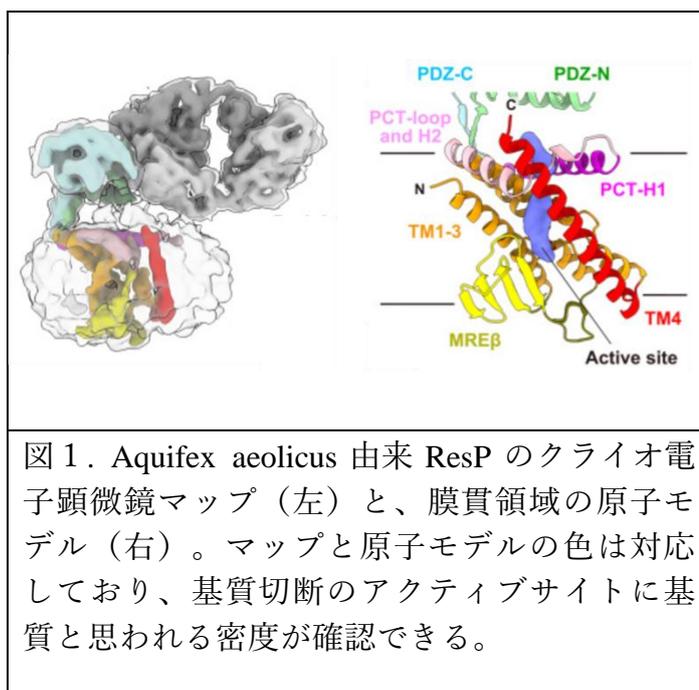
<令和6年度の主な研究活動概要>

我々の研究室は、クライオ電子顕微鏡を用いた蛋白質の構造解析を行っている。令和6年度は、(1)膜貫通型プロテアーゼのメカニズム解析、(2) 基質結合したベン毛モーター複合体の構造解析などについて研究を行った。

### (1) 膜貫通型プロテアーゼのメカニズム解析

Site-2 Protease (S2P) は、細胞膜に存在する膜貫通型のプロテアーゼで、特に細胞内のシグナル伝達に関連する。この研究では *Aquifex aeolicus* 由来 S2P である ResP の基質認識及び切断機構を明らかにするために、クライオ電子顕微鏡を用いた構造解析を行った。その結果、分解能 5Å で解析に成功し、S2P の基質認識と切断に重要な役割を果たす PCT (Peripheral membrane-associated C-terminal region) 領域が、基質を引き込むためのスレッディングを可能にする

重要な役割を果たし、基質認識と切断において中心的な役割を果たしていることが明らかとなり、PCT が脂質膜で隔てられた S2P の基質切断のアクティブサイトにどのようにして基質を運ぶのかというメカニズムを解明した。それに加え複数回膜貫通型の膜タンパク質において、特に N-in/C-out 構造を持つ場合に S2P に切断されにくいことも明らかとなった。この結果は、基質の結合様式、基質の膜通過過程、およびその選別メカニズムについて貴重な情報を提供し、これにより、S2P による基質切断の新しい理解が得られた。



## (2) 基質結合したベン毛モーター複合体

回転分子モーターは、“回転する”という特性のため、結晶化が難しく構造解析が困難であった。近年、クライオ電子顕微鏡による構造解析技術の発展により、多くの回転分子モーターの構造が報告されている。細菌のベン毛モーターは回転モーターの代表的な複合体の一つで、その回転は細菌の運動を担っており、感染と病原性に関連していることから新規抗生剤のターゲットとしても注目されている。ベン毛モーターは回転子と固定子で構成されており、固定子はイオンチャネルとして機能する。固定子は細胞外部から内部へのイオン流を回転運動に変換する役割を担っている。今回 *Paenibacillus sp.* TCA20 という菌由来の固定子である MotA1/MotB1 複合体の構造を

クライオ電子顕微鏡で解析した。その結果、分解能 3.2Å での構造解析に成功し、3つのコンフォーメーションの構造を明らかにした。そのうちの1つには可溶化に用いた界面活性剤が入り込むことで大きく形が歪んだ構造が明らかとなった。これまでプロトン駆動型ベン毛モーターで、基質となる低分子が結合した構造は過去になく、初の例となった。この歪んだ構造からモーターの機能は失われているものと考えられ、この脂質の結合様式と複合体の立体構造はプロトン駆動型ベン毛モーターに特化した新規抗生剤創出における重要な情報を提供する。

### <参考文献>

1. Asahi, K.; Hirose, M.; Aruga, R.; Shimizu, Y.; Tajiri, M.; Tanaka, T.; Adach, Y.; Kaneko, M. K., *et al. Sci. Adv.* **2025** 11(9), eabp9011.
2. Onoe, S.; Nishikino, T.; Kinoshita, M.; Takekawa, N.; Minamino, T.; Imada, K.; Namba, K.; Kato, T., *Biomolecules* **2025** 15(3), 435.

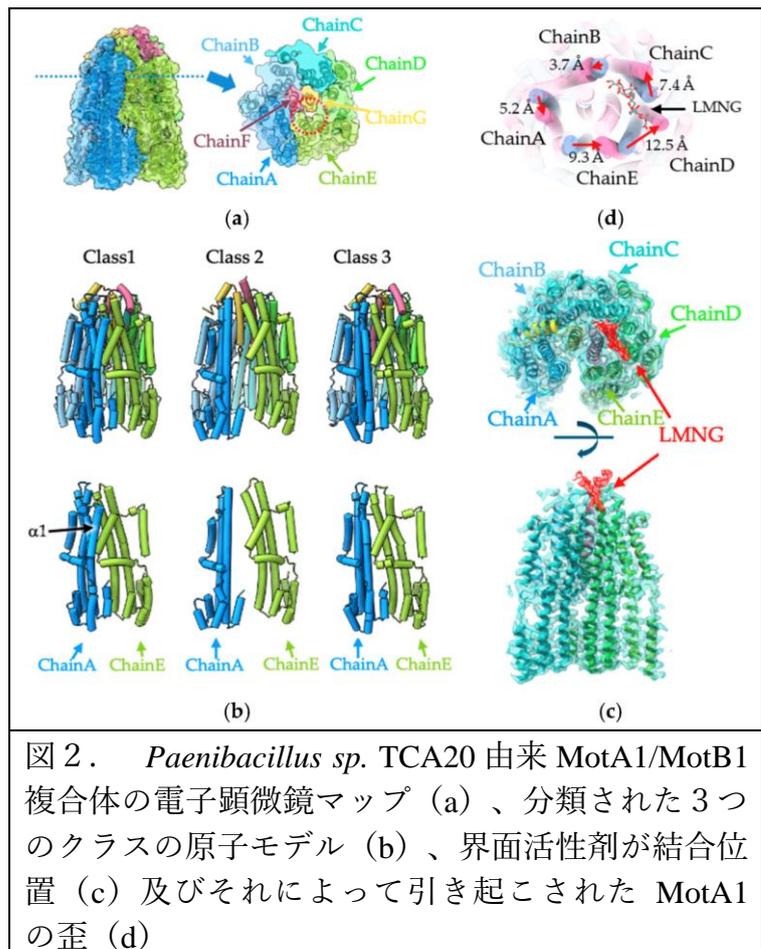


図2. *Paenibacillus sp.* TCA20 由来 MotA1/MotB1 複合体の電子顕微鏡マップ (a)、分類された3つのクラスの原子モデル (b)、界面活性剤が結合位置 (c) 及びそれによって引き起こされた MotA1 の歪 (d)