

2023 年度年次報告書  
細胞の動的・高次構造体  
2021 年度採択研究代表者

川本 晃大

大阪大学 蛋白質研究所  
助教

III型分泌系の細胞内機能構造の高分解能構造解析

## 研究成果の概要

本研究ではビブリオ属菌のⅢ型分泌系に着目し、クライオ電子顕微鏡による単粒子解析とミニセル作製技術を組み合わせた新規解析手法の開発を行うことで、Ⅲ型分泌系の過渡的な超分子複合体の構造基盤解明を細胞内かつ高分解能で目指す。そして、効率の良いタンパク質輸送を可能とするⅢ型分泌系のタンパク質分泌機構を解明する。

Ⅲ型分泌系は細胞膜上様々な向きに分布している。そのため、単粒子解析で用いられる投影画像だけでは、膜上全てのⅢ型分泌系を判別することが難しく、精密な構造解析に至っていない。そこで、三次元の構造情報を得ることが出来る電子線トモグラフィー法を取り入れたハイブリット撮影手法を実装し、その効果を精製したリボソームを用いて検証した。電子線トモグラフィーから得られる構造情報から、立体的な配置を識別し効率の良い試料選択が可能になり、高分解能の構造解析に成功した。しかしながら、電子線トモグラフィー法を取り入れることで、撮影時間が大幅に延び、高分解能の構造解析に必要な大量の画像データの収集が難しくなった。そこで、サンプリング角度の調整や露光時間を短縮するなど、電子線トモグラフィー法の高速度を進めている。

腸炎ビブリオは2種類のⅢ型分泌系(T3SS1、T3SS2)を持ち、互いに異なるエフェクターを分泌して独立的に機能する。Ⅲ型分泌系の構造解析を進めている過程で、細胞外に延びているニードル繊維構造が、これまで報告されているサルモネラや赤痢菌などのⅢ型分泌系よりも、数倍も長いことが明らかになった。また、細胞外に延びているニードル繊維の構造解析を行い、低分解能であるが立体構造を得ることに成功した。内径、外径共に既に報告されているⅢ型分泌系と変わらず、エフェクター分泌機能に影響が少ないことが示唆された。