

細胞の動的・高次構造体
2021 年度採択研究者

2021 年度 年次報告書

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

§ 1. 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するⅢ型分泌系のタンパク質分泌機構を解明する。

一年次では、作製済である海洋性ビブリオ菌ミニセルを用いて、べん毛Ⅲ型分泌系を標的とした構造解析を行うための条件検討を行った。条件検討の結果、グラフェンを支持膜とした電顕用グリッドを用いることで、効率よく撮影できることが確認できた。しかしながら、当初予定していた、「どの場所を撮影してもミニセルが撮影出来るような条件」を作り出すことは難しく、従来の撮影方法では効率よくミニセルの画像を収集することができない。そこで、ミニセルの系に特化した撮影技術の開発を進めている。具体的には、低倍率で撮影したミニセルの電顕画像を機械学習させ、低倍率の電顕画像からミニセルの位置を決定するプログラムを作成する。そして、作成したプログラムを自動撮影プログラムに組み込むことで、効率のよいミニセル画像の撮影に取り組んでいる。

また、高画質で菌体内部の構造解析を行うため、ミニセル作製技術を用いて腸炎ビブリオミニセルの作製を進めた。腸炎ビブリオは2種類のⅢ型分泌系(T3SS1, T3SS2)を持ち、それぞれの構造は明らかになっていない。2種類のⅢ型分泌系は互いに異なるエフェクターを分泌し、独立的に機能するが、相同性の高い構造が予想されている。そこで、2つのⅢ型分泌系の混在を防ぐため、T3SS1, T3SS2 それぞれが欠損した変異株ミニセルの作製を試みた。実験の結果、T3SS1 欠損変異株のミニセル作製に成功した。そこで、作製した T3SS1 欠損変異株ミニセルを用いて、T3SS2 の構造解析に向けた撮影条件の検討を始めた。