

細胞の動的・高次構造体
2021 年度採択研究代表者

2022 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

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。

二年次では一年次に引き続き、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、一年次に作製した T3SS1 欠損変異株のミニセルと同様、T3SS2 欠損変異株のミニセル作製に成功した。また、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行った結果、T3SS2 の可視化に成功した。解析に成功した T3SS2 の構造は、サルモネラや赤痢菌で既に報告されているⅢ型分泌系の構造と類似しており、同様の機能を有していることが示唆された。細胞内にある T3SS2 タンパク質輸送装置の高分解能構造解析に向け、一年次に作成した自動撮影プログラムに用いてデータ収集を実施している。

さらに解析手法の応用性を検討するため、ビブリオ属菌のⅢ型分泌系の構造解析と並行して、様々な病原性細菌の細胞内構造の解析を進めた。その内、スピロヘータ目に属するレプトスピラでは、細胞内構造の可視化に成功し、高分解能の構造解析に向けた撮影条件の検討およびデータ収集を進めている。