

提出日：2019年4月26日

平成30年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

## (2) 研究成果の概要

課題名	化膿レンサ球菌の免疫回避に関わるタンパク質群の構造解析		
研究代表者	氏名	山口 雅也	
	所属機関名・部局名	大阪大学 大学院歯学研究科	
	職名	助教	
事業名 (該当の事業名の右欄に○)	<input type="radio"/>	共同研究員	
	<input type="radio"/>	超高磁場NMR 共同利用研究課題	
	<input type="radio"/>	クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題	
	<input type="radio"/>	客員フェロー	
蛋白研受入担当教員名	鈴木 守		
<p>化膿レンサ球菌は、咽頭炎や劇症型感染症を引き起こすグラム陽性細菌である。ほぼ全ての M 血清型の化膿レンサ球菌は、ヒアルロン酸莢膜を発現する一方で、ヒアルロン酸分解酵素 HylA が不活性型となっている。一方、一部の化膿レンサ球菌は、莢膜を持たず、活性型の HylA を発現する。本研究では、化膿レンサ球菌のヒアルロン酸分解酵素に着目し、系統関係と立体構造の解明を行った。</p> <p>化膿レンサ球菌の <i>hylA</i> 遺伝子配列について、最尤法ならびにベイズ法により分子系統樹を作成し、系統関係を検証した。その結果、化膿レンサ球菌の HylA は、<i>emm4</i>, <i>emm22</i> 型からなる活性型 HylA 群、<i>emm3</i> 型からなる不活性型 HylA 群、その他の <i>emm</i> 型からなる不活性型 HylA 群の 3 群に分類された。また、<i>emm4</i>, <i>emm22</i> 型からなる活性型群の HylA は、他のレンサ球菌の活性型ヒアルロン酸分解酵素が水平伝播したのではなく、不活性型 HylA から派生して生じたことが示唆された。</p> <p>次に、不活性型のヒアルロン酸分解酵素について、X線結晶構造解析法を用いたタンパク質の構造解析を行った。<i>emm1</i> 型化膿レンサ球菌のゲノム DNA を精製し、PCR 法と遺伝子合成酵素により組換え不活性型 HylA を作製した。得られた HylA をアフィニティークロマトグラフィーとゲル濾過クロマトグラフィーにて精製した。結晶化スクリーニングキットを用いて、最適な結晶化条件を決定した。得られた結晶を用いて高輝度 X 線を用いた回折実験を行い、回折データをもとに電子密度を計算した。分子置換法によってモデル構築を行った後に、精密化を行って 2.4-Å の分解能で最終構造を決定した。立体構造から、ヒアルロン酸分解活性の有無に関わる 172 番目のアミノ酸付近が、不活性型 HylA では一定の立体構造を持たない disorder 領域であることが示された。</p> <p>これらの結果から、進化の過程で disorder 領域のアミノ酸に変異が生じ、一部の化膿レンサ球菌の HylA が活性型となった可能性が示された。</p>			

※本様式は、“拠点事業成果報告”として、拠点ホームページにて公開させていただく予定です。

※必ず A4 用紙 1 枚におさめて下さい。 ※提出期限：令和元年5月17日（金） ※提出の際は PDF 変換して下さい。

※提出先：大阪大学蛋白質研究所拠点プロジェクト班 E-mail: tanpakuken-kyoten@office.osaka-u.ac.jp