

提出日：2019年5月17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	構造情報に基づく2成分性膜孔形成タンパク質の機能改変	
研究代表者	氏名	田中 良和
	所属機関名・部局名	東北大学大学院・生命科学研究科
	職名	教授
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	栗栖 源嗣	
<p>病原性微生物はホストの細胞に障害を与えるために、膜に孔を形成する毒性蛋白質（膜孔形成毒素）を分泌する。膜孔形成毒素は、可溶性の単量体として分泌されるが、ターゲット細胞に接すると膜上で円状に会合した後、折り畳まれていたステム領域を放出してβバレル型の膜貫通領域を細胞膜に挿入して膜孔を形成する。黄色ブドウ球菌は、赤血球に対する膜孔形成活性をもつ3種類の膜孔形成毒素（α-ヘモリジン、LukF、Hlg2）を分泌する。いずれの蛋白質も配列相同性が30%以上と高く、また立体構造も酷似しているが、興味深い事に、各分子の自己会合特性は大きく異なる。すなわち、α-ヘモリジンは単独で会合してホモ7量体の膜孔を形成する1成分性毒素であるのに対し、LukF、Hlg2は交互に会合して8量体の膜孔を形成する2成分性毒素である。我々はこれまで、各々の毒素の会合過程を明らかにしてきたが、毒素同士がどのようにしてお互いを識別し、特定のパートナーとのみ特異的に会合して膜孔を形成するのか、また、7量体・8量体という分子の会合数がどのようにして決定されるのかについては、明らかにできていない。そこで現在、我々は、構造解析から提唱された機構を基に変異体蛋白質を合理設計し、本来とは異なる会合特性をもつ人工蛋白質を創出することを通して、毒素が会合する際の自己組織化機構を解明することを目指している。</p> <p>本研究では、構造情報をもとに合計22種類の変異体タンパク質をデザインし、大腸菌発現系を用いて調製した。一連の解析を通し、不溶性タンパク質として発現されたLukF、Hlg2を可溶性分子に巻き戻す手法を構築できた。また、得られた変異体の溶血活性、CDスペクトル等を比較したところ、Hlg2のステム領域はHlaのステム領域と置き換える事ができるが、LukFの同領域はHlaの配列で置き換える事はできないということ、また、Hlg2の活性のあるキメラ変異体は、野生型のHlg2とは異なる構造をしていることがわかった。キメラ体の活性はステム中の重要残基への変異導入により有意に向上したことなども考え合わせ、Hlaのステムの配列で置換しただけでは活性の回復には不十分であり、種々の重要残基をHlg2の残基に戻す事で活性が大幅に回復するという事が明らかになった。</p>		