

9型分泌装置分泌タンパク質の Immunoglobulin-like domains は細胞内構造安定性に関与する (Japanese)

Immunoglobulin-like domains of the cargo proteins are essential for protein stability during secretion by the type IX secretion system.

佐藤啓子¹、角田真二²、武部克希³、鈴木守³

Keiko Sato^{1*}, Shinji Kakuda², Katsuki Takebe², Mamoru Suzuki²

¹長崎大学・医歯薬学総合研究科感染免疫学講座口腔病原微生物学

〒853-8588 長崎市坂本 1-7-1

University of Nagasaki, 1-7-1 Sakamoto, Nagasaki 852-8523, Japan

²帝人・医薬系研究開発

〒100-8585 東京都千代田区霞が関三丁目 2番 1号

Kasumigaseki Common Gate West Tower 2-1, Kasumigaseki 3-chome, Chiyoda-ku, Chiyoda-ku,

Tokyo 100-8585, Japan

³大阪大学蛋白質研究所・超分子構造解析研究室

〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 3-2

Institute for Protein Research, Osaka University, 3-2 Yamadaoka, Suita-shi, Osaka 565-0871, Japan

1 はじめに

背景: 歯周病は心血管疾患、脳梗塞、糖尿病、早産などとの関連性も指摘されている慢性細菌感染症であり、細菌の産生する病原因子により、直接および間接的に歯周組織の破壊が生じる疾患である。病原因子の分泌機構の解明は、病原性発現の制御に繋がると期待され、多くの細菌で研究が行われてきたが、歯周病原細菌の歯周病原因子分泌に関わる仕組みについては殆どわかっていなかった。私たちは、代表的な歯周病原細菌がもつ新奇の分泌機構（9型分泌機構; T9SS）を見つけた (Proc Natl Acad Sci U S A. 2010)。T9SSは複数の歯周病原細菌に保存されることから、この T9SSの解明により歯周病を制御する可能性を探ることができると考える。

目的: 分泌装置は異なる 1-2 分子から構成されることが予測されている。システムを構築する個々の因子について機能解析をおこなうとともに、分泌されるタンパク質がどのような共通性を持ち、分泌機構に認識されて膜を通過するのか、T9SSの全貌を明らかにすることを目的とする。(i) T9SSの装置構造を明らかにする、(ii) 分泌タンパク質の共通構造を明らかにする、の2つの目的について解析を進める。

2 実験

Photon Factory BL-1AにてHBP35結晶の回折データを得た。解析を行ったところ、単量体の構造とともに、多量体を形成したHBP35の構造も得られた。単量体のHBP35の構造は、最初に角田氏によって解析されている (KEK) [1]。

3 結果および考察

T9SS分泌タンパク質の輸送タンパク質の特徴を知るために、*P. gingivalis* の T9SS分泌タンパク質である、HBP35全長タンパク質（プロ型）の X線結晶構造解析を行なった (図1)。これまでに報告のある T9SS分泌タンパク質 Gingipain (Kgp, Rgp) (分泌型) 等の構造と、HBP35の構造を比較することにより、T9SS分泌タンパク質は、機能ドメイン、Ig-like domain、C-terminal domain を基本構造として持つことが示された。機能ドメインと Ig-like domain は疎水性相互作用でもって面していた。Ig-like domainを欠失した HBP35 (HBP35ΔIg) および Gingipain (KgpΔIg、RgpΔIg) を *P. gingivalis* において発現させたところ、HBP35ΔIg および RgpBΔIg は、各々抗 Hbp35抗体および抗 Rgp抗体を用いたイムノブロットで検出されなくなった。これらは、菌体内で品質管理タンパク質の1つである HtrAプロテアーゼによって分解されていた。

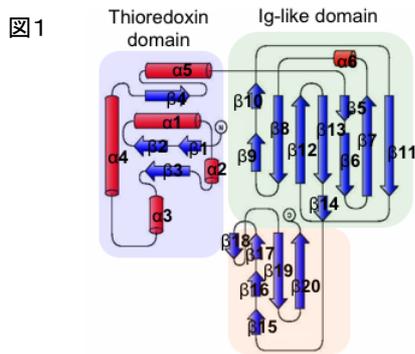


Fig. 1. A topology diagram of HBP35. α -Helices are shown as red cylinders, and β -strands are shown as blue arrows. The intervening loops are indicated with continuous lines. The regions corresponding to the TRX-fold, Ig-like structure and CTD are shaded in blue, green and orange, respectively.

4 まとめ

Ig-like domain を欠失した T9SS 分泌タンパク質が HtrA プロテアーゼによって分解されることから、Ig-like domain を欠失するとタンパク質凝集することが示唆された。一方、HBP35 タンパク質の構造から、Ig-like domain は、機能ドメインと Ig-like domain 間のドメインの疎水性面を覆うことによって、菌体内での凝集を防いでいることが示唆された (図 2)。

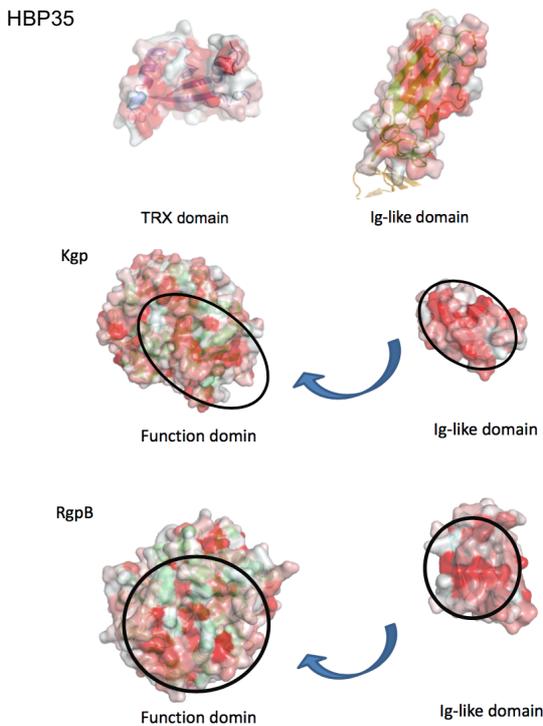


Fig. 2. Interfaces of functional and Ig-like domains. A. Surface views of the interacting interfaces of the protease and Ig-like domains of Hbp35, Kgp and RgpB colored by polarity (hydrophobic (red) to non-hydrophobic (white)).

謝辞

この研究を遂行するにあたり、PF スタッフの方々に装置の使用方法、データ取得方法の改善法など、細部にわたるご指導を頂いた結果、出来たものです。教えていただきありがとうございます。大変ありがたいです。ここに感謝致します。

参考文献

[1] Immunoglobulin-like domains of the cargo proteins are essential for protein stability during secretion by the type IX secretion system.

Sato K, Kakuda S, Yukitake H, Kondo Y, Shoji M, Takebe K, Narita Y, Naito M, Nakane D, Abiko Y, Hiratsuka K, Suzuki M, Nakayama K. , *Mol Microbiol.* Oct;**110**(1):64-81(2018).