

Mycoplasma mobile のモーターを構成するタンパク質 MMOB1620 の構造解析 Structural Analysis of MMOB1620 Composing the Motor of *Mycoplasma mobile*

佐藤宏樹¹, 児玉彩², 工藤恒³, 大岡紘治⁴, 季高駿士³, 林勇樹³, 新井宗仁^{3,4,*}, 宮田真人^{1,2}

¹ 大阪市立大学大学院理学研究科, 〒558-8585 大阪市住吉区杉本 3-3-138

² 大阪市立大学理学部, 〒558-8585 大阪市住吉区杉本 3-3-138

³ 東京大学大学院総合文化研究科, 〒153-8902 目黒区駒場 3-8-1

⁴ 東京大学大学院理学系研究科, 〒153-8902 目黒区駒場 3-8-1

Hiroki SATO¹, Aya KODAMA², Hisashi KUDO³, Koji OOKA⁴, Shunji SUETAKA³,
Yuuki HAYASHI³, Munehito ARAI^{3,4,*}, Makoto MIYATA^{1,2}

¹ Graduate School of Sci., Osaka City Univ., 3-3-138 Sugimoto, Sumiyoshi, Osaka 558-8585, Japan

² Faculty of Science, Osaka City University, 3-8-1 Komaba, Meguro, Tokyo 153-8902, Japan

³ Dept. of Life Sciences, The University of Tokyo, 3-8-1 Komaba, Meguro, Tokyo 153-8902, Japan

⁴ Dept. of Physics, The University of Tokyo, 3-8-1 Komaba, Meguro, Tokyo 153-8902, Japan

1 はじめに

Mycoplasma mobile は、淡水魚の鰓に寄生して滑走を行うマイコプラズマである。*M. mobile* の滑走運動は新規の運動様式であるため、そのメカニズムの解明が重要課題となっている [1,2,3]。*M. mobile* の滑走のための力は、F型 ATPase から進化したと考えられるタンパク質複合体から発生する。我々の最近の研究から、このタンパク質複合体の構造はクライオ電子顕微鏡法によって 4.8 Å の分解能で明らかになっており（未発表）、構成タンパク質の配置が部分的に明らかになっている。しかし、このタンパク質複合体を構成するタンパク質の一つである MMOB1620 については、複体内における配置や、立体構造は未解明のままである [4]。そこで本研究では MMOB1620 に注目し、このタンパク質単独での立体構造を解明することを目的として、溶液状態でのタンパク質の X 線小角散乱 (SAXS) 測定を行った。

2 実験

M. mobile 由来 MMOB1620 タンパク質 (293 残基) を、大腸菌を用いて大量発現し、Ni カラムを用いた親和性クロマトグラフィー等によって高純度精製した。SAXS 測定は、高エネルギー加速器研究機構・放射光実験施設の BL-10C で行った。カメラ長は 2 m、波長は 1.5 Å 程度、検出器は PILATUS3 2M を用いた。試料の凝集体形成を防ぐために、Superdex 200 increase カラムもしくは Superdex 75 increase カラムを用い、HPLC とセルを連結させた SAXS (SEC-SAXS) 測定を行った。得られた散乱曲線は、PF で開発された SAXS データ解析用ソフトウェア SAnGler と Serial Analyzer [5,6]、および ATSAS パッケージ [7] を用いて解析した。

3 結果および考察

精製して得られた MMOB1620 タンパク質は、ゲルろ過においてストークス半径 3.7 nm のシングルピ

ークを示した。また、円偏光二色性 (CD) スペクトル測定から得られた二次構造含量は、アミノ酸配列から予測された値と一致していた。さらに、タンパク質加水分解酵素による限定分解の結果から、MMOB1620 の N 末端側に不規則構造領域が存在することが示唆された。

次に、MMOB1620 タンパク質の SAXS 測定を行った。その結果、MMOB1620 の慣性半径 R_g は 3.5 nm であり、ゲルろ過測定から得られた分子サイズと整合する結果が得られた。また、DAMMIF ソフトウェアを用いて三次元立体構造概形のモデリングを行った結果、MMOB1620 タンパク質は、棒状の立体構造を持つことが明らかになった。

今後は、以上のような構造特性を持つ MMOB1620 タンパク質が、*M. mobile* 滑走における力発生を担う F 型 ATPase 様タンパク質複体内のどの部分に配置されるのかを明らかにしていきたい。

謝辞

高エネルギー加速器研究機構の清水伸隆先生には大変お世話になりました。この場をお借りして感謝申し上げます。

参考文献

- [1] M. Miyata, *Annu. Rev. Microbiol.* **64**, 519 (2010).
- [2] M. Miyata and T. Hamaguchi, *Curr Opin Microbiol.* **29**, 15 (2016).
- [3] M. S. Nishikawa *et al.*, *mBio*, **10**, e02846-19 (2019).
- [4] I. Tulum *et al.*, *Sci. Rep.* **10**, 3792 (2020).
- [5] N. Shimizu *et al.*, *AIP Conf. Proc.* **1741**, 050017 (2016).
- [6] K. Yonezawa *et al.*, *AIP Conf. Proc.* **2054**, 060082 (2019).
- [7] D. Franke *et al.*, *J. Appl. Cryst.* **50**, 1212 (2017).

* arai@bio.c.u-tokyo.ac.jp