

結核菌休眠制御因子・DNA 複合体の X 線結晶構造解析 X-ray crystallographic analysis of the *Mycobacterium tuberculosis* dormancy regulator・DNA complex

松賢吾¹, 川野邊由香¹, 西山晃史², 尾関百合子², 松本壮吉², 伊東孝祐^{1,*}

¹新潟大学理学部 / 大学院自然科学研究科, 〒950-2181 新潟県新潟市西区五十嵐 2 の町 8050

²新潟大学医学部 / 大学院医歯学総合研究科, 〒951-8510 新潟県新潟市中央区旭町通 1 番町 757

Kengo MATSU¹, Yuuka KAWANOBE¹, Akihito NISHIYAMA², Yuriko OZEKI²,

Sohkichi MATSUMOTO², Kosuke ITO^{1,*}

¹Faculty of Science / Graduate School of Science and Technology, Niigata University,
8050, Ikarashi 2-no-cho, Nishi-ku, Niigata 950-2181, Japan.

²Faculty of Medicine / Graduate School of Medical and Dental Sciences, Niigata University,
1-757 Asahimachi-dori, Chuo-ku, Niigata 951-8510, Japan.

1 はじめに

結核菌(*Mycobacterium tuberculosis*)は結核を引き起こす病原体である。結核菌は感染後、多くの場合発症には至らず休眠状態に移行するが、何らかの刺激により体内で再増殖して結核を発症させる。そのため、結核菌の休眠や再増殖の仕組みを解明することは、今後の結核治療において重要な課題となっている。

これまでに我々は、結核菌の休眠を制御する因子として、休眠制御因子 X を同定している。休眠制御因子 X は、大腸菌の核様体タンパク質 HU と相同性の高い N-terminal domain (NTD) と、塩基性アミノ酸に富む繰り返し配列からなる長い天然変性領域を持った C-terminal domain (CTD) の 2 つのドメインから構成される。我々は最近、高速原子間力顕微鏡 (高速 AFM) と分子動力学計算により、休眠制御因子 X の天然変性領域が両面テープのように働いて DNA を凝集させ、結核菌の休眠を誘導することを明らかにしている^[1]。そこで本研究では、休眠制御因子 X と DNA の相互作用様式を原子分解能レベルで明らかにすることを目的として、休眠制御因子 X・DNA 複合体の X 線結晶構造解析に取り組んだ。

2 実験

休眠制御因子 X の CTD の繰り返し配列を含むペプチドは GenScript 社および東レリサーチセンターに化学合成を委託した。オリゴ DNA は FASMAC 社およびメルク社に化学合成を委託した。休眠制御因子 X のペプチドおよびオリゴ DNA を混合し、シッティングドロップ蒸気拡散法により結晶化を行った。得られた結晶に X 線を照射して回折データセットを取得し、各種ソフトにより計算することで電子密度マップを得た。なお、X 線回折データは BL 17A および NW12A にて取得した。

3 結果および考察

10 bp のオリゴ DNA について、休眠制御因子 X の CTD の繰り返し配列を含む、4、7、9 残基のペプチドそれぞれと共結晶化を行った。その結果、7 残基および 9 残基のペプチドを使用した条件において結晶が得られた。得られた結晶から X 線回折データを取得し、電子密度マップを得た。だが、両方の場合において、DNA の電子密度は得られたものの、休眠制御因子 X の CTD の電子密度は確認できなかった (図 1)。

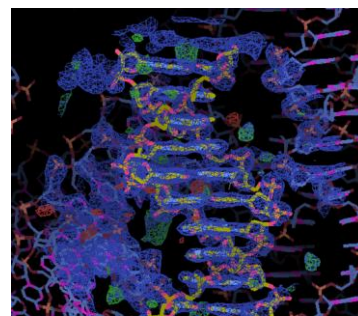


図 1: 得られた電子密度

4 まとめ

今回使用したコンストラクトにおいては、結合親和性が低かったためか、目的複合体の構造を得ることはできなかった。今後は、親和性の高いコンストラクトを得るため、相互作用解析を行い、DNA や休眠制御因子 X の CTD の長さを検討する。そして、再度、結晶構造解析を行う。

謝辞

ビームラインスタッフの皆様にご礼申し上げます。

参考文献

- [1] Nishiyama A, Shimizu M, Narita T, Kodera N, Ozeki Y, Yokoyama A, Mayanagi K, Yamaguchi T, Hakamata M, Shaban AK, Tateishi Y, Ito K, Matsumoto S. (2024) Dynamic action of an intrinsically disordered protein in DNA compaction that induces mycobacterial dormancy. *Nucleic Acids Res.* 52(2):816–830.

* k-ito@bio.sc.niigata-u.ac.jp