

## 結核菌の休眠制御因子の構造生物学 Structural biology of a dormancy regulatory protein from *M. tuberculosis*

川野邊由香<sup>1</sup>、渡辺航希<sup>1</sup>、西山晃史<sup>2</sup>、尾関百合子<sup>2</sup>、松本壮吉<sup>2</sup>、伊東孝祐<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>新潟大学理学部 / 大学院自然科学研究科

<sup>2</sup>新潟大学医学部 / 大学院医歯学総合研究科

Yuuka KAWANOBE<sup>1</sup>, Koki WATANABE<sup>1</sup>, Akihito NISHIYAMA<sup>2</sup>, Yuriko OZEKI<sup>2</sup>,  
Sohkichi MATSUMOTO<sup>2</sup>, Kosuke ITO<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Science / Graduate School of Science and Technology, Niigata University

<sup>2</sup>Faculty of Medicine / Graduate School of Medical and Dental Sciences, Niigata University

### 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、感染後ほとんどが増殖を停止する休眠状態へと移行するが、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、結核菌の増殖制御や休眠現象のメカニズムを探ることは結核の潜在化と発症がどのように決定されるかを解明するために重要である。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、C 末端領域に、繰り返し配列からなる天然変性領域 (C-terminal domain (CTD)) を有している。休眠制御因子 X は休眠状態の結核菌で多く発現し、様々な因子と相互作用することで休眠を制御している事が示唆されている。

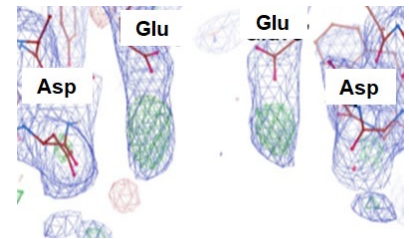
現在までに我々は、休眠制御因子 X は蛋白質 Y と直接相互作用すること、また、その相互作用は休眠制御因子 X CTD と蛋白質 Y の N-terminal domain (NTD) の間で起こることを明らかにしている。さらに我々は、休眠制御因子 X と蛋白質 Y の相互作用は、休眠制御因子 X CTD に見られる繰り返し配列のリピート数によって増強されることを明らかにしている。しかしながら、その相互作用様式は未だに明らかとなっていない。そこで本研究では、休眠制御因子 X と蛋白質 Y の相互作用様式を原子分解能レベルで明らかにすることを目的として、休眠制御因子 X CTD の配列を含むペプチドと蛋白質 Y NTD の共結晶化、および X 線結晶構造解析を行った。

### 2 実験

結核菌由来の蛋白質 Y NTD は大腸菌発現系により発現させ、各種クロマトグラフィーにより精製した。実験に使用した休眠制御因子 X CTD ペプチドは GenScript 社に合成を依頼した。結晶化のスクリーニングはシッティングドロップ蒸気拡散法により行った。データ測定は Rigaku MicroMax 007HF/R-Axis IV\*\*および高エネルギー加速器研究機構 PF BL BL5A で行った。その後、各種計算用ソフトを用いて構造解析を行った。

### 3 結果および考察

蛋白質 Y と休眠制御因子 X CTD ペプチドの共結晶化により結晶が得られた。この結晶に X 線を照射し、およそ 3 Å の分解能でデータセットを得ることができた。データを基に構造計算を行った結果、休眠制御因子 X CTD ペプチド全長の電子密度を見ることはできなかったが、蛋白質 Y NTD の酸性アミノ酸 2 残基の近傍に、蛋白質 Y NTD や溶媒分子には対応しない電子密度が見られた (下図)。休眠制御因子 X CTD ペプチドは塩基性に富む配列を持つことから、これらの電子密度は静電的相互作用により結合した休眠制御因子 X CTD ペプチドの一部であると考えられる。



### 4 まとめ

休眠制御因子 X CTD ペプチドと考えられる電子密度が確認された。電子密度が確認された近傍の酸性アミノ酸残基は保存されており、蛋白質 Y の活性発現に重要な機能ドメインを構成している。このことから、休眠制御因子 X はこれら酸性アミノ酸残基に直接作用して蛋白質 Y の活性を制御し、そのことで休眠誘導に関与すると考える。今後は、これら酸性アミノ酸残基を置換した変異体を作製し、休眠制御因子 X との相互作用や休眠への寄与を明らかにしたいと考えている。

謝辞

ビームラインスタッフの皆様にご礼申し上げます。

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