

福田 庸太

大阪大学大学院薬学研究科  
助教

## クマムシの乾眠機構にせまる多階層横断構造生物学

### §1. 研究成果の概要

本研究では、原子・分子レベルから細胞レベルまでの階層横断的なクマムシ構造生物学の確立を目指しており、解像度の異なる複数の電子顕微鏡技術や X 線結晶構造解析を相補的に用いて、乾眠状態と活動状態の間での分子レベルおよび細胞レベルでの生体構造の違いを可視化する術を樹立することを目的としている。

原子・分子レベルでの構造解析として、極めて高い乾燥耐性を持つヨコヅナクマムシが有する特徴的なタンパク質を、大腸菌を用いて大量発現させ、精製し、X 線結晶構造解析によってその立体構造を決定した。また、その機能解析をおこなった。具体的なターゲットは、乾燥時に高発現するタンパク質、クマムシ固有ヘムタンパク質、既知のグルタチオン S トランスフェラーゼ (GST) と配列相同性の低いクマムシ GST などである。クマムシ GST は大腸菌内で高発現すること、結晶化効率が極めて高いことが判明したので、他のクマムシタンパク質を大腸菌内で高発現させるための独自のタグシステムとして採用した。その結果、クマムシが有する短いペプチド等の大量発現も可能になった。また、クマムシ GST タグを結晶化促進タグとして利用する手法の検討も行った。

細胞レベルでの構造解析として、電子顕微鏡による細胞内小器官やタンパク質複合体観察のための条件検討をおこなった。予想されていたように、化学処理をクマムシに対して直接おこなうと、生命状態維持時と異なる形態へと変化してしまうため、別法を用いたほうが良いという結論に至った。また、野外で採集したクマムシには個体間のばらつきがあることから、大量の均質なサンプルを得るために、電子顕微鏡での観察用サンプルを用意する目的で、既報に従ってヨコヅナクマムシの飼育を始めた。