

細菌毒素が膜に「孔」を開ける過程をクライオ電子顕微鏡で捉えた

— ドミノ倒しのように進む段階的な構造変化を解明 —

【研究のポイント】

- 細菌毒素イオタ毒素^{※1}の膜結合成分 Ib について、ポア形成途中の複数の構造状態をクライオ電子顕微鏡で捉えました。
- 7 個の Ib 分子が一斉ではなく、隣り合う分子へ順番に構造変化が伝わる「ドミノ倒し」のような段階的成熟機構を明らかにしました。
- Prepore I から Prepore VIII まで 8 種類のプレポア^{※2}構造を同定しました。
- Φ（ファイ）クランプ^{※3}の形成が、プレポアから完成したポアへ移行する重要な構造的チェックポイントとなる可能性を示しました。

【概要】

京都産業大学生命科学部の山田 等仁氏（客員研究員）と津下 英明教授らのグループ（中西 蓮氏（M2）、二宮 優季氏(D2)、吉田 徹（客員研究員））は、京都大学との共同研究により、細菌毒素が細胞膜に孔（ポア）を形成する過程で起こる段階的なタンパク質の構造変化をクライオ電子顕微鏡（cryo-EM）によって明らかにしました。

【背景】

一部の病原性細菌が産生する「二成分毒素」は、細胞膜に孔を形成し、その孔を通して毒性を担う酵素成分を細胞内へ送り込みます。これまで、孔が形成される前の状態（プレポア）と完成した孔（ポア）の構造は研究されてきましたが、プレポアがどのような過程を経てポアへ成熟するのか、その途中の構造変化は十分に分かっていませんでした。

【研究プロセスと成果】

■ 偶然見つかった「Ib ロゼッタ」がポア形成途中を捉える手がかりに

研究グループは、ウェルシュ菌（*Clostridium perfringens*）が産生するイオタ毒素の膜結合成分 Ib を解析しました。その過程で、複数の Ib オリゴマーが放射状に集合した特徴的な超複合体を偶然見出し、Ib-rosette（Ib ロゼッタ）と命名しました（図1）。このロゼッタでは、通常は一過性で捉えることが難しいポア形成途中の構造が安定化されていました。

■ 8 種類のプレポア構造をクライオ電子顕微鏡で可視化

クライオ電子顕微鏡による詳細な単粒子解析の結果、7 個の Ib 分子からなるリング状構造について、Prepore I から Prepore VIII まで 8 種類の異なるプレポア構造を捉えることに成功しました（図）。

■ 7 分子が順番に変化する「ドミノ倒し」型の成熟

興味深いことに、7 個の Ib 分子は一斉に構造を変えるものではありませんでした。1 個、2 個、3 個……と隣り合う分子が順番に構造を変化させ、最終的に 7 個すべてが成熟型へ移行していました（図）。このことから、ポア形成に向けた構造変化が、隣の分子へ次々と伝わる「ドミノ倒し」のような仕組みで進行することが明らかになりました。

■ Φ クランプ形成がポア完成へのチェックポイント

さらに、毒素タンパク質が通過する孔の最も狭い部分である「Φ（ファイ）クランプ」の形成が、この成熟過程と密接に連動していることも分かりました。Φ クランプ近傍のアミノ酸 D452 を変異させた Ib（D452A）を解析すると、ポア形成前の構造が安定して蓄積しました。この結果は、Φ クランプの形成がプレポアから完成したポアへ移行するための重要な構造的チェックポイントとなっている可能性を示しています。

【本研究の学術的な意義と今後の展望】

膜に孔を形成するタンパク質は、細菌毒素や免疫系で重要な役割を果たす一方、近年ではナノポアシーケンシングや分子輸送などへの応用も注目されています。本研究で得られた「ポアができるまで」の一連の構造スナップショットは、膜孔形成タンパク質の基本原理の理解を深めるだけでなく、人工ナノポアや細胞内への分子送達技術の設計につながる構造基盤になることが期待されます。

【用語・事項の解説】

1. イオタ毒素

ウェルシュ菌（*Clostridium perfringens*）が産生する二成分毒素の一つ。酵素成分 Ia と膜結合成分 Ib からなり、Ib が細胞膜にポアを形成して Ia の細胞内への侵入を助ける。

2. プレポア（prepore）／ポア（pore）

プレポアは、膜に孔を形成するタンパク質が集合したものの、まだ膜を貫通する孔を完成していない状態。そこから大きな構造変化を経て、膜を貫通したポアへと成熟する。

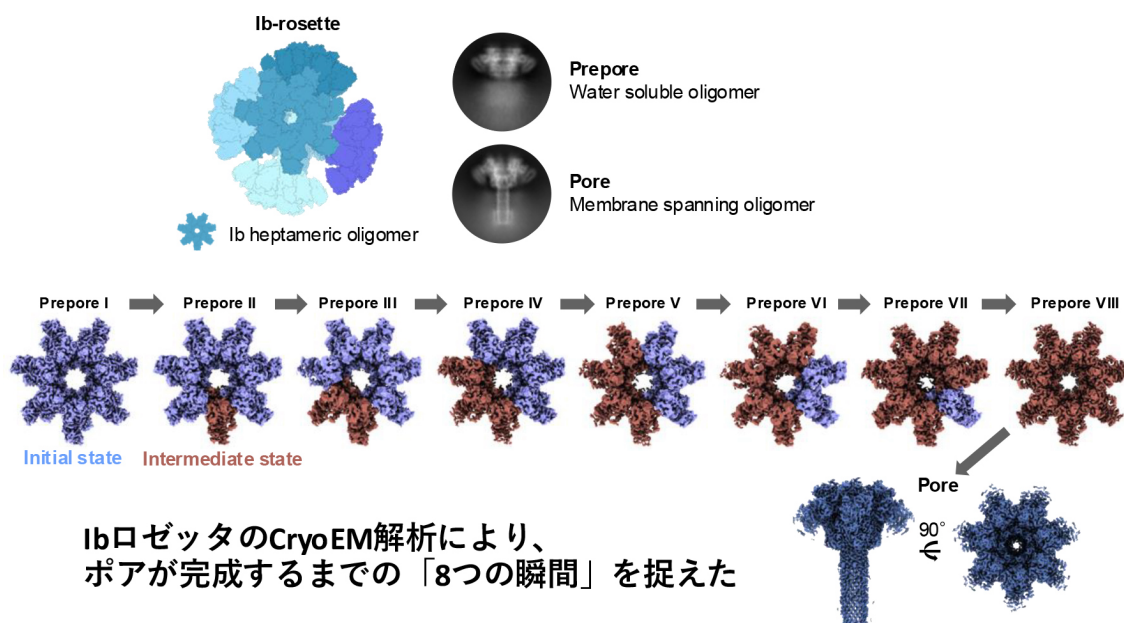
3. Φ（ファイ）クランプ

Ib が形成するポア内部の最も狭い部分に位置する構造。芳香族アミノ酸残基によって形成され、酵素成分がポアを通過する際に重要な役割を果たす。

【論文情報】

論文タイトル	Step-by-Step Maturation Mechanism of Binary Toxin Pore Revealed by Cryo-EM Analysis (クライオ電子顕微鏡解析によって明らかになった二成分毒素ポアの段階的成熟機構)
掲載誌	Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)
掲載日	2026 年 9 月 28 日
著者	山田 等仁 ^{1*} 、中西 蓮 ¹ 、二宮 優季 ¹ 、吉田 徹 ¹ 、野田 岳志 ² 、杉田 征彦 ² 津下 英明 ^{1#} 1 京都産業大学、2 京都大学 *筆頭著者、#責任著者
DOI	www.pnas.org/doi/10.1073/pnas.2627537123

【添付資料】



【謝辞】

本研究は、以下の支援を受けて実施されました。

(1) 日本学術振興会 (JSPS) 科学研究費助成事業 (研究課題番号: 24K01993、21H02452 [津下] 21J13410 [吉田])

(2) the Platform Project for Supporting Drug Discovery and Life Science Research (Basis for Supporting Innovative Drug Discovery and Life Science Research (BINDS)) from AMED under Grant Number 2366 and 6392

(3) The Joint Usage/Research Center Program of the Institute for Life and Medical Sciences at Kyoto University