

令和 4 年 5 月 23 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03167

研究課題名(和文) 緑膿菌の2つの生体膜を貫き多剤耐性化に関わる異物排出膜タンパク質複合体の構造基盤

研究課題名(英文) Structure basis for multidrug resistance efflux pump spanning both membranes in *Pseudomonas aeruginosa*

研究代表者

山下 栄樹 (Yamashita, Eiki)

大阪大学・蛋白質研究所・准教授

研究者番号：00294132

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：緑膿菌の多剤耐性化に関わる異物排出タンパク質複合体MexAB-OprMは、内膜に存在するトランスポーターMexB、ペリプラズム領域に存在するアダプタータンパク質MexA、外膜に存在する外膜チャンネルタンパク質OprMの3種類からなり、2つの生体膜を貫く巨大な膜タンパク質複合体である。本研究では、抗菌剤非存在下及び存在下での機能を持ったMexAB-OprM複合体の構造解析に初めて成功し、複合体形成機構を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日和見細菌である緑膿菌は、健康者には感染症を発症しないが、免疫不全患者では重篤な症状をもたらす。特に多種の抗菌剤に耐性を持つ緑膿菌(多剤耐性緑膿菌)は院内感染を引き起こし社会問題の一つとなっている。多剤耐性化の原因の一つとして考えられている異物排出タンパク質複合体の構造は、新しい作用機序を持つ抗菌剤の開発へと繋がる

研究成果の概要(英文)：The efflux pump MexAB-OprM involved in multidrug resistance in *Pseudomonas aeruginosa* is composed of the transporter MexB in the inner membrane, the adapter protein MexA in the periplasmic region, and the outer membrane channel protein OprM in the outer membrane and is a giant membrane protein complex that spans two membranes. In this study, we succeeded for the structure analysis of the MexAB-OprM complex in the absence and presence of antimicrobials and clarified the mechanism of complex formation.

研究分野：放射光構造生物学

キーワード：膜蛋白質の物質輸送 クライオ電子顕微鏡単粒子解析 X線結晶構造解析

1. 研究開始当初の背景

日和見細菌である緑膿菌は、健常者には感染症を発症しないが、免疫不全患者では重篤な症状をもたらす。特に多種の抗菌剤に耐性を持つ緑膿菌(多剤耐性緑膿菌)は院内感染を引き起こし社会問題の一つとなっている。緑膿菌の多剤耐性化の一つの原因として、菌体にとって異物である抗菌剤を菌体外に排出する機能を持つ異物排出タンパク質複合体の過剰発現がある。

(Pool, *Clin. Microbiol. Infect.* 2004)。異物排出タンパク質複合体は、3種類のタンパク質(異物の認識及び排出のためのエネルギー獲得を行い内膜に存在するトランスポーター、異物を菌体外に放出し外膜に存在するチャンネル膜タンパク質、それら2種類の膜タンパク質を繋ぎペリプラズム空間に存在するアダプタータンパク質)からなり、2つの生体膜(内膜、外膜)を貫く巨大な膜タンパク質複合体である。異物排出タンパク質複合体は、細菌の多剤耐性化に深く関わっており、各タンパク質コンポーネントについては、複合体を構成し抗菌剤の認識及び排出エネルギーの獲得を行う大腸菌由来のトランスポーターAcrBの構造研究を中心に、遺伝学的な手法や生化学的手法を用い排出機構に関わる重要なアミノ酸部位の特定や、他の構成タンパク質の構造研究から複合体の形成機構の解明に向けた研究が行われ、また、複合体の阻害剤開発も行われてきている。しかし、機能する現場で形成する緑膿菌の異物排出タンパク質複合体(MexAB-OprM複合体)の詳細な構造情報がないため、複合体としての連携した異物排出機構については、未解明なままである。クライオ電子顕微鏡の技術進歩により、大腸菌オルソログであるAcrAB-To1C複合体の構造が報告された(Du et al., *Nature* 2014)。しかし、その構造解析で用いられた複合体は、遺伝的なペプチドリンカーによるキメラ体複合体であり、その排出の機能は野生型の10%以下である。そのため、複合体形成に重要な構成タンパク質間の相互作用に関わる正確な情報や抗菌剤などの異物結合型複合体の構造を得ることは困難であった。

2. 研究の目的

多種の抗菌剤に耐性を持ち、院内感染を引き起こす多剤耐性緑膿菌に作用する抗菌剤を開発するには、抗菌剤を菌体外に排出する異物排出タンパク質複合体の機能を阻害し、抗菌剤を菌体内に蓄積させることが重要と考えられる。異物排出タンパク質複合体の阻害剤開発には、抗菌剤を菌体外に排出する機構を解明する必要があり、そのためには、機能する現場で形成する複合体の詳細な構造情報が必要不可欠である。本研究は、クライオ電子顕微鏡単粒子解析法及びX線結晶構造解析法を用いて、緑膿菌の多剤耐性化に深く関わっている異物排出タンパク質複合体 MexAB-OprM について、複合体を形成することで各タンパク質がどのように連携して働くかを原子レベルで解明し、さらに、2つの生体膜を貫く複合体の形成機構や抗菌剤を菌体外に排出する機構の詳細な構造基盤を構築することを目的とした。

3. 研究の方法

緑膿菌由来の異物排出タンパク質複合体 MexAB-OprM の機能する現場で形成する正確な構造を解明し、抗菌剤を菌体外に放出する機構を明らかにするために、まず、(1) MexAB-OprM 複合体に関連した構造解析、(2) 構造解析から得られた情報を基にしたアミノ酸変異体を用いた機能解析を行った。構造解析及び機能解析結果から(3) 複合体形成前後での膜タンパク質(MexB, OprM)の構造変化や抗菌剤存在下・非存在下での複合体の構造変化を調べ、MexAB-OprM 複合体の菌体外への異物排出機構の提案を行った。我々は、本研究課題申請時までに、緑膿菌由来の異物排出タンパク質複合体 MexAB-OprM を安定に単離・精製する方法を見つけ、複体内での構成タンパク質の化学量論比を決定した。本研究では、我々が見つけた機能する現場で形成する MexAB-OprM 複合体を安定に単離・精製する方法を利用することにより、大腸菌オルソログである AcrAB-To1C 複合体で報告された遺伝的なペプチドリンカーなどによるキメラ体などを使わず、100%排出能を有した MexAB-OprM 複合体を用いることとした。

(1) MexAB-OprM 複合体に関連した構造解析

① クライオ電子顕微鏡単粒子解析法による MexAB-OprM 複合体の構造解析

MexAB-OprM 複合体は膜タンパク質複合体であるため、精製時には界面活性剤を用いた。界面活性剤はクライオ電子顕微鏡単粒子解析において、目的粒子のコントラストを下げる原因となるので、界面活性剤以外を用いて MexAB-OprM 複合体を安定にし、良好な画像が得られるグリッドを作製する方法を検討した。良好な画像から、粒子を拾い、単粒子解析を行った。初期に得られたポテンシャル図では、相互作用領域や排出経路に不明瞭な部分が多かったため、MexAB-OprM が持つ構造多型を考慮し解析を行った。画像取得には阪大・蛋白研に設置されているクライオ電子顕微鏡を用いた。

② X線結晶構造解析法による抗菌剤結合型 MexB の構造解析

既報の MexB の結晶化条件は酸性領域であり、MexAB-OprM 複合体の単粒子解析に用いた中性領域とは異なっていたので、中性領域で結晶化条件の検索を行った。中性領域で

得られた結晶に対して抗菌剤をソーキングし、抗菌剤結合型 MexB 結晶を作製した。構造解析に用いた回折強度データの収集は SPring-8 BL44XU で行った。

- ③ 抗菌剤結合型 MexAB-OprM 複合体の構造解析
クライオ電子顕微鏡用に調製した MexAB-OprM 複合体溶液に抗菌剤を加え、単粒子解析を行った。抗菌剤には、抗菌剤結合型 MexB の X 線結晶構造解析で結合が確認できたノボビオシンを用いた。
- (2) 構造情報を基にしたアミノ酸変異体を用いた機能解析
MexAB-OprM 複合体の単粒子解析から特定した構成タンパク質間で相互作用しているアミノ酸残基について、複合体としての機能への影響について調べるために、変異体を作製した。
 - ① In vitro の解析
変異体の各構成タンパク質をそれぞれ精製し、野生型 MexAB-OprM 複合体の再構成条件下で精製した各構成タンパク質を混合した。混合した溶液中での複合体形成効率をゲル濾過クロマトグラフィー (SEC) で確認し、野生型の SEC チャートと比較することで、複合体形成への影響を調べた。
 - ② In vivo の解析
変異体を導入したプラスミドを大腸菌に組み込み、抗菌剤存在下でどの程度の菌体濃度だとコロニーが残るかという薬剤耐性評価法を用いて、変異体による抗菌剤に対する感受性の変化を確認した。
- (3) 複合体形成前後での膜タンパク質 (MexB, OprM) の構造変化や抗菌剤存在下・非存在下での複合体の構造変化
複合体形成機構を理解するために、膜タンパク質である MexB, OprM それぞれについて結晶構造が報告されているので、それら結晶構造と本研究課題で明らかにした MexAB-OprM 複体内での各膜タンパク質の構造を比較した。また、複合体としての異物排出機構を理解するために、抗菌剤非存在下と抗菌剤存在下での MexAB-OprM 複合体の構造を比較した。

4. 研究成果

(1) MexAB-OprM 複合体に関連した構造解析

① クライオ電子顕微鏡単粒子解析法による MexAB-OprM 複合体の構造解析

グリッド作製の検討の結果、MexAB-OprM 複合体を精製時に用いた界面活性剤から低塩濃度下でアンフィポールに置き換えた溶液で良好な画像を習得することができた。約 8,000 枚の良好な画像から約 53 万個の粒子をピックアップし、3D classification 後に残った約 16 万粒子を使って 3 次元再構成像を得た。得られた像から、OprM の構造が 2 状態存在することが分かり、MexB の構造についても結晶構造と同様に非対称な構造が混ざっている可能性を考えた。まず、OprM 領域に着目し 3D classification を行った結果、約 6 万粒子が集まった像 (A 状態) と約 7 万粒子 (B 状態) が集まった像に分かれた。さらに、それぞれを MexB 領域に着目し解析を進めた結果、A 状態では 37,971 粒子を使用して 3.64Å の解像度の 3 次元再構成像が、B 状態では 42,338 粒子を使用して 3.76Å の解像度の 3 次元再構成像が得られた。それぞれの 3 次元再構成像を用いて構造精密化を行い、機能する現場で形成する MexAB-OprM 複合体の構造 (図 1) を明らかにすることができた。

MexAB-OprM 複合体の全体構造は、分子の大きさが膜を貫く方向に約 320Å と非常に長く、3 量体 OprM、6 量体 MexA、3 量体 MexB から構成されていた (図 1)。MexB-OprM 間で直接の相互作用は見られず、MexA が筒状の 6 量体を形成することで MexB と OprM を連結していた。MexA は 4 つのドメイン (α -helical hairpin、Lipoyl、 β -barrel、MP) から構成されており、複合体中での各ドメインの構造は単体の X 線結晶構造と殆ど変わらなかったが、内膜に最も近いドメイン (MP) の配置が 2 種類あった。内膜に最も近い MP ドメイン以外の 3 つのドメインは 6 回回転対称の関係であり、それぞれのドメインが密に相互作用しており、6 量体で抗菌剤を通過することのできるダクトを

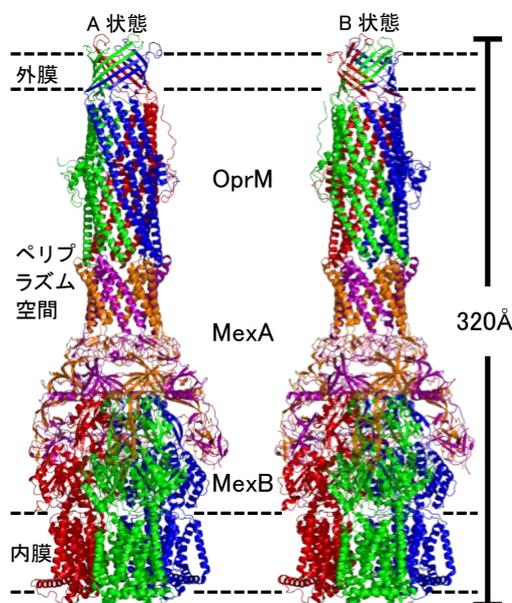


図1 MexAB-OprM 複合体の構造
OprM が MexAB に対して相対的に 60°
回転した 2 種類の構造

形成していた。この構造から、MexB から放出された抗菌剤がペリプラズム空間に漏れることなく、菌体外に排出される経路が確保されることが明らかになった。

② X線結晶構造解析法による抗菌剤結合型 MexB の構造解析

MexAB-OprM 複合体の単粒子解析に用いた溶液条件付近で結晶探索を行ったところ、2.5Å 分解能より高分解能まで X 線を回折する結晶が得られ、2.3Å 分解能で構造解析に成功した。様々な抗菌剤溶液に浸した結晶から X 線回折強度データ収集を行い、それぞれについて構造解析を行ったところ、抗菌剤ノボピオシンが結合している構造が得られた (図 2)。ノボピオシンは大腸菌のホモログ分子である AcrB の基質結合サイトと同じ位置にある MexB の基質結合サイトに結合していた。

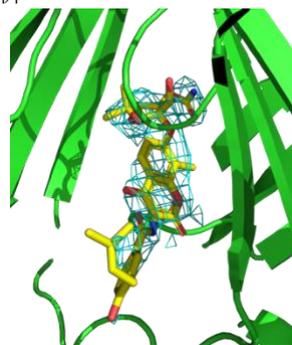


図 2 MexB の結合部位の抗菌剤
抗菌剤の電子密度: 水色籠状
MexB 構造の構造: 緑色

③ 抗菌剤結合型 MexAB-OprM 複合体の構造解析

MexAB-OprM 複合体の単粒子解析用溶液に近い条件ではノボピオシンが MexB に結合することを結晶構造解析で確認できたので、抗菌剤結合型 MexAB-OprM 複合体の単粒子構造解析にはノボピオシンを用いた。約 4,700 枚の良好な画像から約 90 万個の粒子をピックアップし、抗菌剤非存在下での構造解析と同様な方法で、OprM 領域に着目した場合分け後、MexB 領域に着目した解析を行った。抗菌剤の非存在下と同様に、OprM が MexAB に対して相対的に 60 度回転した 2 状態の 3 次元再構成像が得られた。それぞれの 3 次元再構成像の解像度は、A 状態では 31,409 粒子を使用して 3.50Å、B 状態では 31,466 粒子を使用して 3.60Å であった。

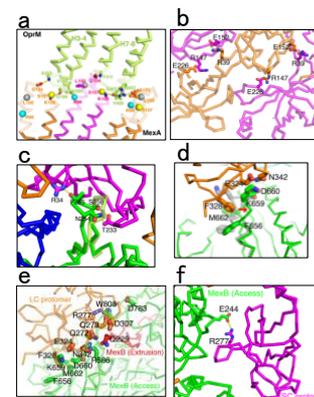


図 3 タンパク質間相互作用の様子

(2) 構造解析から得られた情報を基にしたアミノ酸変異体を用いた機能解析

(1)-①で明らかにした MexAB-OprM 複合体の構造から各構成タンパク質間の相互作用に関わるアミノ酸残基を、MexA-OprM 間については MexA で 7 残基と OprM で 8 残基 (図 3a)、MexA-MexB 間については MexA で 13 残基と MexB で 15 残基 (図 3c-f) を特定した。MexA-MexA 間は MP ドメイン以外、互いのドメイン間で広く相互作用をしており、特に Lipoyl ドメインにおいては、2 箇所静電相互作用が見られた (図 3b)。これら相互作用に関わるアミノ酸残基の変異体を MexA では 20 種類、OprM では 8 種類を作製した。

① In vitro の解析

20 種類の MexA 変異体と 8 種類の OprM の変異体について、In vitro での複合体形成効率を調べた。構造で特定したアミノ酸残基のほとんどが複合体形成に重要であることを In vitro 実験でも明らかにした。野生型との SEC チャートと比較した際の判断基準の例を図 4 に示し、各アミノ酸残基の変異体については表 1 に纏めた。

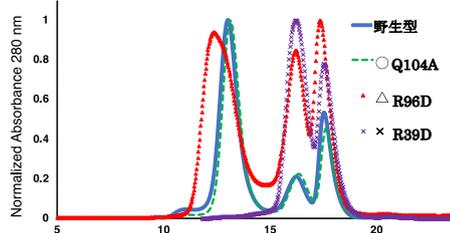


図 4 SEC チャート

表 1 In vitro での複合体形成

相互作用分子	変異箇所	複合体形成
MexA-OprM 相互作用 (MexA変異)	R96A	○
	R96D	×
	L99D	○
	L100D	×
	D103A	○
MexA-OprM 相互作用 (OprM変異)	Q104A	○
	S107D	×
	K108A	○
	R194A	○
	V198D	○
MexA-MexB 相互作用 (MexA変異)	G199A	×
	V200D	○
	R403A	×
	G407A	×
	V408D	○
MexA-MexA 相互作用 (MexA変異)	N410A	○
	R34A	×
	R34D	×
	T233A	×
	T233V	×
MexA-MexA 相互作用 (OprM変異)	R277A	×
	R277D	×
	R39A	×
	R39D	×
	R147A	×
MexA-MexA 相互作用 (MexA変異)	R147D	×
	Q168A	×
	E211A	○
	R277A	○
	R277D	○

② In vivo の解析

20 種類の MexA 変異体について、薬剤耐性評価法を用いて、4 種類の抗菌剤への感受性の変化をそれぞれ調べた。抗菌剤の違いによる感受性の違いはなく、In vitro 解析で複合体形成ができなかったものは抗菌剤への感受性が向上した。構造で特定したアミノ酸残基が細菌内でも複合体形成に重要であることを明らかにした。抗菌剤としてノボピオシンを使った薬剤耐性評価実験の結果の

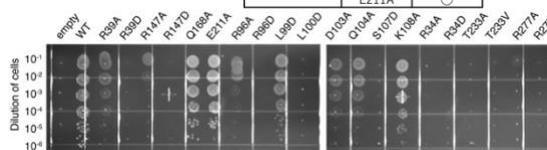


図 5 ノボピオシンに対する薬剤耐性評価

- 例を図5に示す。
- (3) 複合体形成前後での膜タンパク質(MexB, OprM)の構造変化や抗菌剤存在下・非存在下での複合体の構造変化

OprM: 複合体内では、結晶構造と同様に3量体構造であった。結晶構造ではペリプラズム空間側が閉じており、抗菌剤が通過するほどの穴がなかったが、複合体の構造では、ペリプラズム空間側が開いた構造を取っており、抗菌剤が通過するのに十分な大きさであった(図6)。

MexB: 複合体中では3量体で存在し、各プロトマーは既報の結晶構造と同様に、基質取り込み型、基質結合同型、基質排出型の3状態の構造を取っていた。抗菌剤存在下・非存在下の複合体の構造: 全体構造や各構成タンパク質間の相互作用は抗菌剤の存在下と非存在下で違いはなかった。唯一、MexBの結合サイトへの入口部分でMexB内のドメイン間を繋ぐループ(ゲートループ)の構造が異なっていた。このゲートループの構造の違いによって、抗菌剤の非存在下では結合サイトへの経路が閉じられていたのに対して、抗菌剤の存在下では結合サイトへの経路が開いていた。経路が開いた構造は結晶構造と同じ構造であった。結晶構造ではMexBの基質である界面活性剤が存在する環境で解析されている。つまり、ゲートループが抗菌剤の有無で開閉し、抗菌剤の排出制御に関与していることを明らかにした。

- (4) MexAB-OprM 複合体の菌体外への異物排出機構の提案

本研究を遂行したことにより、MexAB-OprM 複合体形成から薬剤排出への機能発現の過程が次のように説明できる。MexA はリポ酸を介して内膜に結合しているので、まず、内膜上でMexAB複合体が形成され、次に、ペリプラズム空間でMexAB複合体のMexA先端とOprMの先端が出会うことで、OprMのペリプラズム空間側のゲートが開いたMexAB-OprM複合体になる。この複合体は、MexBの上にMexA-OprMによって形成されたダクトが連結した構造を持ち、排出経路がMexBの排出口から菌体外まで繋がった構造となっている。従って、ペリプラズム空間の抗菌剤濃度が上昇すれば、MexBのゲートループが開き、MexBの機能的回転輸送機構により抗菌剤がMexBの排出口に移され、移された抗菌剤は自由拡散により、菌体外まで排出されると考えられる。

本研究によって、細菌内で機能する形であるMexAB-OprM複合体への形成機構から抗菌剤排出に至るまでの過程の理解が進んだが、これらの構造は、ある条件下のある瞬間を捉えた形でしかなく、連携した詳細な複合体形成機構、抗菌剤の存在量に応じたゲート作動機構、より詳細な多基質の取込経路や認識機構など、より理解を深めるためには様々な条件の構造解析を進める必要がある。また、緑膿菌では他に11種類のホモログ分子があるので、複数種類の異物排出タンパク質複合体による多剤耐性化機構について理解するためには、他の異物排出タンパク質複合体についても構造機能解析を進める必要がある。

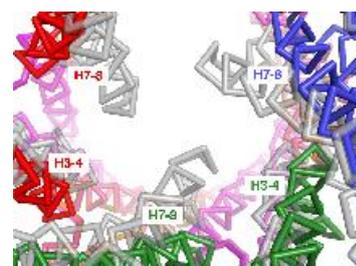


図6 複合体内のOprMの構造と結晶構造

複合体: 赤、緑、青、
結晶構造: 灰色

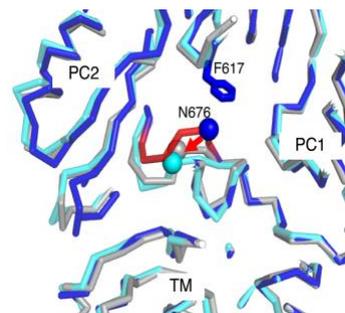


図7 MexB ゲートループの構造変化

抗菌剤非存在下の複体内 MexB: 青色
抗菌剤存在下の複体内 MexB: 水色
結晶構造: 灰色

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Shimada A, Hara F, Shinzawa-Itoh K, Kanehisa N, Yamashita E, Muramoto K, Tsukihara T, Yoshikawa S.	4. 巻 297
2. 論文標題 Critical roles of the Cu(B) site in efficient proton pumping as revealed by crystal structures of mammalian cytochrome c oxidase catalytic intermediates.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 100967
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbc.2021.100967	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Bharatham N, Bhowmik P, Aoki M, Okada U, Sharma S, Yamashita E, Shanbhag AP, Rajagopal S, Thomas T, Sarma M, Narjari R, Nagaraj S, Ramachandran V, Katagihallimath N, Datta S, Murakami S.	4. 巻 12
2. 論文標題 Structure and function relationship of OqxB efflux pump from Klebsiella pneumoniae.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 54000
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-021-25679-0.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Shinzawa-Itoh K., Sugimura T., Misaki T., Tadehara Y., Yamamoto S., Hanada M., Yano N., Nakagawa T, Uene S., Yamada T., Aoyama H., Yamashita E., Tsukihara T., Yoshikawa S., Muramoto K.	4. 巻 295
2. 論文標題 X-ray structures of catalytic intermediates of cytochrome c oxidase provide insights into its O ₂ activation and unidirectional proton-pump mechanisms.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 5818-5833
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA119.009596	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 堤研太、山下栄樹	4. 巻 56
2. 論文標題 緑膿菌由来の2つの膜を貫く巨大な排出ポンプMexAB-OpeMの構造	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ファルマシア	6. 最初と最後の頁 504-508
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14894/faruawpsj.56.6_504	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tsutsumi Kenta, Yonehara Ryo, Ishizaka-Ikeda Etsuko, Miyazaki Naoyuki, Maeda Shintaro, Iwasaki Kenji, Nakagawa Atsushi, Yamashita Eiki	4. 巻 10
2. 論文標題 Structures of the wild-type MexAB-OprM tripartite pump reveal its complex formation and drug efflux mechanism	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1520
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-019-09463-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 North Olesia I., Sakai Kouhei, Yamashita Eiki, Nakagawa Atsushi, Iwazaki Takuma, Buttner Carina R., Takeda Shigeki, Davidson Alan R.	4. 巻 4
2. 論文標題 Phage tail fibre assembly proteins employ a modular structure to drive the correct folding of diverse fibres	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Microbiology	6. 最初と最後の頁 1645 ~ 1653
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41564-019-0477-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Ueno Go, Shimada Atsuhiko, Yamashita Eiki, Hasegawa Kazuya, Kumasaka Takashi, Shinzawa-Itoh Kyoko, Yoshikawa Shinya, Tsukihara Tomitake, Yamamoto Masaki	4. 巻 26
2. 論文標題 Low-dose X-ray structure analysis of cytochrome c oxidase utilizing high-energy X-rays	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Synchrotron Radiation	6. 最初と最後の頁 912 ~ 921
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1107/S1600577519006805	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sakai Kohei, Iwazaki Takuma, Yamashita Eiki, Nakagawa Atsushi, Sakuraba Fumiya, Enomoto Atsushi, Inagaki Minoru, Takeda Shigeki	4. 巻 166
2. 論文標題 Observation of unexpected molecular binding activity for Mu phage tail fibre chaperones	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Biochemistry	6. 最初と最後の頁 529 ~ 535
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvz068	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 櫻井啓介, 山下栄樹, 吉村政人, 長谷川和也, 村上博則, 熊坂崇, 古川行人, 上野剛, 山本雅貴, 中川敦史
2. 発表標題 生体超分子複合体構造解析ビームライン（大阪大学蛋白質研究所）BL44XUの現状
3. 学会等名 第35回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 堤研太, 米原涼, 池田悦子, 宮崎直幸, 前田晋太郎, 岩崎憲治, 中川敦史, 山下栄樹
2. 発表標題 The wild-type structures of MexAB-OprM multidrug efflux pump revealed by cryo-electron microscopy
3. 学会等名 第15回日本生物物理学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 堤研太, 米原涼, 池田悦子, 宮崎直幸, 前田晋太郎, 岩崎憲治, 中川敦史, 山下栄樹
2. 発表標題 対称性不一致な多剤排出ポンプ複合体MexAB-OprMの単粒子解析
3. 学会等名 日本顕微鏡学会 第75回学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 堤研太, 米原涼, 池田悦子, 宮崎直幸, 前田晋太郎, 岩崎憲治, 中川敦史, 山下栄樹
2. 発表標題 The complex formation and drug efflux mechanism of MexAB-OprM multidrug efflux pump revealed by cryo-electron microscopy
3. 学会等名 第19回日本蛋白質科学会年会・第71回日本細胞生物学学会大会合同年次大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

超分子構造解析研究室 http://www.protein.osaka-u.ac.jp/rcsf/supracryst/

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	中川 敦史 (Nakagawa Atsushi) (20188890)	大阪大学・蛋白質研究所・教授 (14401)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	米原 涼 (Yonehara Ryo)		
研究協力者	堤 研太 (Tsutsumi Kenta)		
研究協力者	池田 悦子 (Ikeda Etsuko)		

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	篠原 恵子 (Shinohara Keiko)		
研究協力者	上田 雄士 (Ueda Yushi)		
研究協力者	王 継業 (Wang Jiye)		
研究協力者	永野 皓太 (Nagano Kota)		
研究協力者	浪松 明弘 (Namimatsu Akihiro)		
研究協力者	荒谷 剛史 (Araya Takeshi)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------