



大阪大学  
OSAKA UNIVERSITY

国立大学法人 大阪大学

〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 1-1

TEL: 06-6877-5111 (代)

www.osaka-u.ac.jp

## Press Release

研究成果



報道解禁あり

月 日

本研究成果は「米国アカデミー紀要」から、以下の報道解禁設定があります。  
3月14日(月)15時(米国東部時間)  
TV・ラジオ・WEB … 3月15日(火)午前4時(日本時間)  
新聞 … 3月15日(火)朝刊(日本時間)

平成28年3月14日

# -生命に普遍的な ATP 合成酵素の起源は細菌の毛や毒針?- 細菌の分泌装置蛋白質の構造を原子レベルで解明!

## ❖ 研究成果のポイント

- 細菌の「毒針」や「べん毛」の分泌装置(Ⅲ型分泌装置)で働く ATP 加水分解酵素<sup>※1</sup>(FliI)とその調節蛋白質(FliH)の複合体構造を原子レベルで解明
- Ⅲ型分泌装置の ATP の複合体が、ATP 合成酵素<sup>※2</sup>や細胞内で水素イオンのポンプとして働く V 型 ATP アーゼ<sup>※3</sup>の祖先型であることを示唆
- 細菌を殺さず病原性のみを奪うことで、副作用が少なく耐性菌のできにくい感染症薬剤開発につながることに期待

## ❖ 概要

大阪大学大学院理学研究科の今田 勝巳教授、生命機能研究科の南野 徹准教授らは、細菌の蛋白質分泌装置(Ⅲ型分泌装置)で働く ATP 加水分解酵素と固定子の複合体構造を原子レベルで明らかにしました。Ⅲ型分泌装置は、病原因子となる蛋白質を細胞に送り込むいわば細菌の「毒針」で、感染に必須の構造体であることから世界中で研究が行われていますが、分泌のしくみはよくわかっていませんでした。本研究で解明したこの構造から、Ⅲ型分泌装置が、生物に普遍的にみられる ATP 合成酵素や V 型 ATP アーゼの祖先型に相当することが示されました。

本研究成果により、Ⅲ型分泌のしくみを解明し、病原蛋白質の輸送を阻害する薬剤を開発できれば、細菌を殺さず病原性のみを奪い、副作用が少なく耐性菌のできにくい感染症薬剤開発につながるに期待されます。また、がんや骨粗しょう症治療の標的となっている V 型 ATP アーゼの研究にも役立つことにも期待できます。

本研究成果は米国科学誌「米国アカデミー紀要(Proceedings of the National Academy of Sciences)」の電子版で 2016 年 3 月 14 日(月)の週に(米国東部時間)公開されます。

## ❖ 研究の背景

病原性細菌は、「Ⅲ型分泌装置」と呼ばれる器官を使って病原因子蛋白質をヒト・動物・植物の細胞に直接送り込み、感染します。Ⅲ型分泌装置はいわば細菌の「毒針」であり、感染に必須の構造体であることから世界中で研究が行われていますが、分泌のしくみはよくわかっていません。共同研究グループは、Ⅲ型分泌装置の一種である「べん毛Ⅲ型輸送装置」に着目し研究を進めてきました。べん毛は繊維状の運動器官で、細菌はべん毛をスクリューのように回して水中を泳ぎます(図1)。

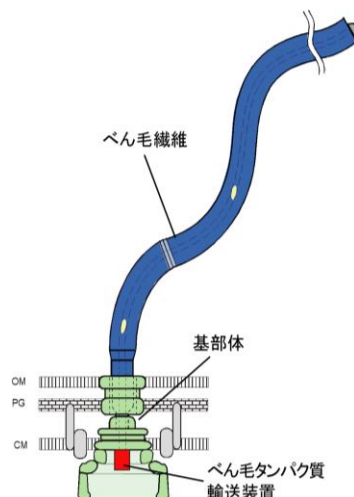
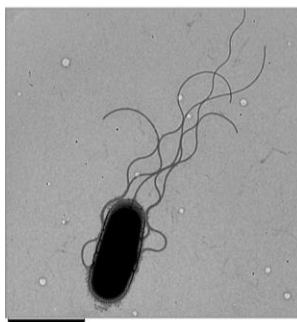


図1 細菌べん毛

サルモネラや大腸菌は菌体から生えた数本のべん毛を回転させて泳ぎます。それぞれのべん毛の根元には回転モーターがあります。左はサルモネラの電子顕微鏡写真(スケールバーは 2 μm)。右はべん毛の模式図(CM: 細胞膜; PG: ペプチドグリカン層; OM: 外膜)。



## Press Release

べん毛は数万個の蛋白質でできており、構成材料となる蛋白質は菌体内でつくられた後、べん毛の根元にあるべん毛 III 型輸送装置を通して細胞膜外へ輸送され、成長中のべん毛末端へ運ばれます。この装置は9種類の蛋白質が数十個が集まってできた超分子複合体で、細胞膜に組込まれた輸送ゲート複合体と細胞質に突き出した輸送 ATP アーゼ複合体で構成されます(図 2)。共同研究グループは、これまでに輸送 ATP アーゼ複合体を構成する3種類の蛋白質のうち、ATP 加水分解酵素 FliI と複合体の中心軸となる FliJ の2種類の蛋白質の構造を明らかにしました。しかし、FliI と強く結合する FliH の構造や複合体を形成したときの構造は不明でした。

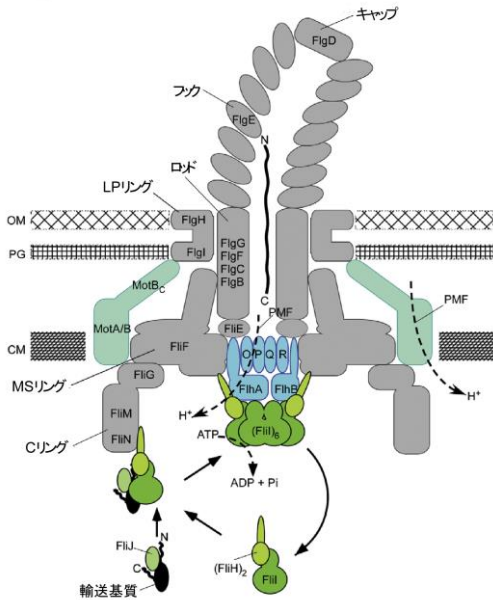


図 2 べん毛基部とべん毛 III 型輸送装置の模式図

輸送装置は、6種類の膜貫通型タンパク質 (FliA, FliB, FliO, FliP, FliQ, FliR) でできた輸送ゲート複合体 (青色の部分。分泌される蛋白質の通路となる) と3種類の可溶性タンパク質 (FliH, FliI, FliJ) でできた ATP アーゼ複合体 (青色の下の緑色の部分。ATP のエネルギーを使って効率よく分泌を行う。) で構成されます。輸送装置を包むべん毛基部の C リングの直径は約 45 nm。(CM: 細胞膜; PG: ペプチドグリカン層; OM: 外膜)。

## ❖ 手法と成果

共同研究グループは、結晶化のために一部を削った FliH と FliI の複合体の結晶を作成し、大型放射光施設 SPring-8 で収集した X 線回折データを用いて FliH-FliI 複合体の構造を原子レベルで解析しました(図 3A)。その結果、2個の FliH がゴルフクラブのような構造を形成し、ゴルフクラブのヘッドに相当する部分で FliI に結合することが明らかになりました。驚いたことに、2個の FliH は同じアミノ酸配列を持つにも関わらず、互いに全く異なる立体構造をとって組み合わせることで、ゴルフクラブ状の構造を形成していました(図3B)。また、この構造は V 型 ATP アーゼの外周固定子と呼ばれる部分とほぼ同じ構造をしていました。V 型 ATP アーゼは細胞内の様々な場所で pH を調節するために働くイオンポンプです。V 型 ATP アーゼの外周固定子は、E サブユニットと G サブユニットと呼ばれる2つの蛋白質でできていますが、2個の FliH はそれぞれのサブユニットにきれいに重なります(図3B)。また、この重ね合わせを元に E サブユニットと G サブユニットのアミノ酸配列を比較すると、両者は 35% の一致を示しました。

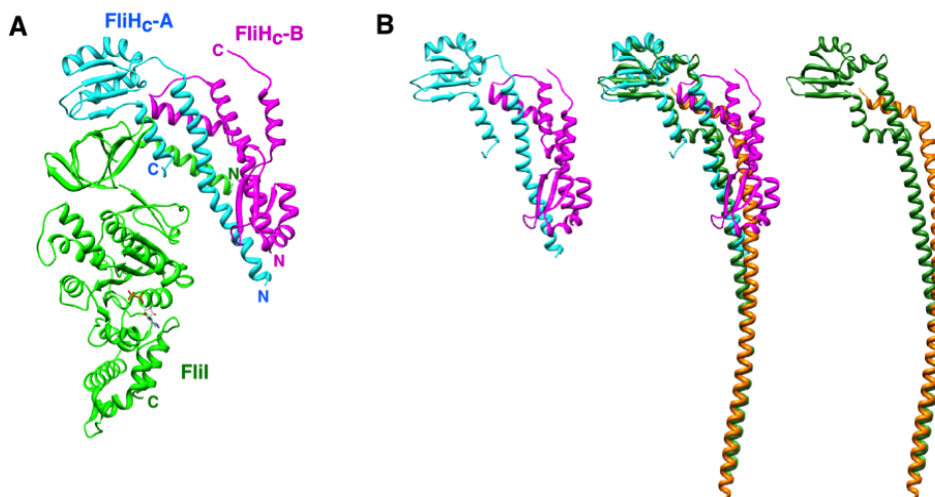


図 3 FliH-FliI 複合体の構造

(A) FliH-FliI 複合体の全体構造。2個の FliH 分子を青色と桃色、FliI を緑色で表示。

(B) FliH の 2 量体と V 型 ATP アーゼ固定子の構造比較。左は FliH の 2 量体、右端は V 型 ATP アーゼ固定子 (緑色: E サブユニット、オレンジ色: G サブユニット)、両者の重ね合わせを中央に表示。



## Press Release

従って、V型ATPアーゼの外周固定子は、FliHのように元々同じ蛋白質2個できていたものが異なる2つの蛋白質に分化したと考えられます。また、べん毛Ⅲ型輸送装置のATPアーゼ複合体はFliI分子を6個含んでいますが、V型ATPアーゼやATP合成酵素はFliIと似た構造を持つ2種類の分子を3個ずつ(計6個)含み、より複雑で分化が進んでいます。これらのことから、輸送ATPアーゼ複合体が機能分化を起こし、より複雑な構成を持つV型ATPアーゼやATP合成酵素に進化したと考えられます。

続いて、解析した構造から輸送ATPアーゼ複合体の構造モデルを作成しました。このモデルは、べん毛輸送装置全体の低分解能電子顕微鏡トモグラフィー像とよく一致し、輸送装置におけるATPアーゼ複合体の各構成成分の位置や結合の仕方が明らかになりました(図4)。

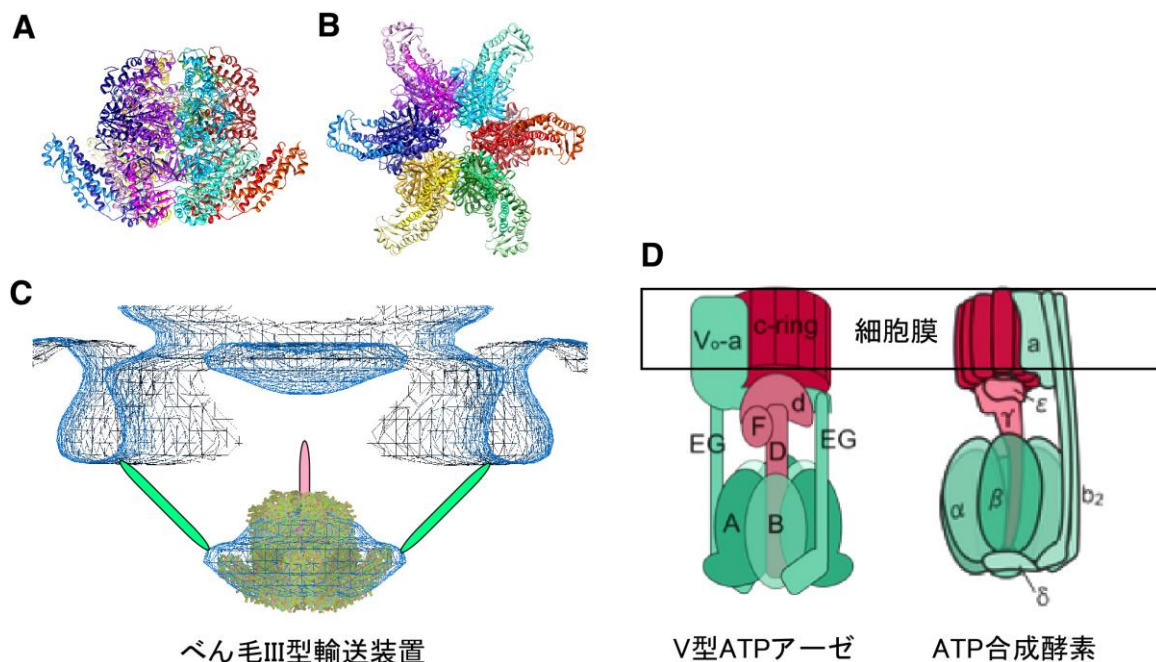


図4 ベん毛Ⅲ型輸送ATPase複合体のモデル

(A)FliH-FliI複合体のリングモデル。輸送ATPアーゼ複合体中ではFliH-FliI複合体が6個あると考えられています(FliI分子を6、FliH分子を12含む)。各々のFliH-FliI複合体は別々の色で表示しています。(B)(A)を下から見た図。(C)べん毛輸送装置全体の低分解能電子顕微鏡トモグラフィー像にモデルを当てはめた図。今回の解析には含まなかったFliHの削った部分を緑色、FliIを桃色で表示。(D)V型ATPアーゼとATP合成酵素の模式図。V型ATPアーゼではA,B,D,E,Gと標記されたサブユニット群、ATP合成酵素では $\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$ , $\delta$ , $b_2$ と標記されたサブユニット群が、輸送ATPアーゼ複合体のFliH、FliI、FliJに相当する。

### ❖ 本研究成果が社会に与える影響(本研究成果の意義)

O157のような病原性大腸菌、赤痢菌、サルモネラなど、病原性細菌の多くはⅢ型分泌装置を使って病原蛋白質をヒトや動物の細胞に直接送り込むことで感染します。従って、Ⅲ型分泌のしくみを解明して病原蛋白質の輸送を阻害する薬剤を開発すれば、細菌を殺さず病原性のみを奪うことができます。Ⅲ型分泌で重要なATP加水分解酵素-固定子複合体の詳細な構造を初めて明らかにした今回の成果は、Ⅲ型分泌の解明に向けた大きな一歩であり、副作用が少なく耐性菌のできにくい感染症薬剤開発につながる成果でもあります。また、V型ATPアーゼにおいては、ATP加水分解サブユニットと外周固定子の原子レベルでの複合体構造は未知であり、がんや骨粗しょう症治療の標的となっているV型ATPアーゼの研究にも役立つ成果です。さらに、ATP合成酵素やA/V型ATPアーゼは多くの生物に普遍的に見られ、重要な生命機能を担っている複雑な分子集合体ですが、その起源についてはよくわかっていません。今回の成果は、ATP合成酵素やA/V型ATPアーゼの起源を探る上での大きな手がかりとなります。



## ❖ 特記事項

本研究は、科学研究費補助金の支援のもとに行われました。

## ❖ 掲載論文・雑誌

本研究成果は米国科学誌「米国アカデミー紀要(Proceedings of the National Academy of Sciences)」の電子版で2016年3月14日(月)の週に(米国東部時間)公開されます。

論文タイトル: Insight into the flagellar type III export revealed by the complex structure of the type III ATPase and its regulator.

(III型ATP加水分解酵素と制御蛋白質の複合体構造から明らかになったべん毛III型輸送)

掲載誌: Proceedings of the National Academy of Sciences

著者: Katsumi Imada<sup>†\*</sup>, Tohru Minamino<sup>†</sup>, Yumiko Uchida, Miki Kinoshita and Keiichi Namba.

<sup>†</sup>同等の貢献度, \*代表著者

## ❖ 本件に関する問い合わせ先

大阪大学 大学院理学研究科 教授

今田 勝巳(いまだ かつみ)

〒560-0043 大阪府豊中市待兼山町 1-1

TEL: 06-6850-5455/5456 FAX: 06-6850-5455

E-mail: kimada@chem.sci.osaka-u.ac.jp

大阪大学 大学院生命機能研究科 准教授

南野 徹(みなみの とおる)

〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 1-3

TEL: 06-6879-4625 FAX: 06-6879-4652

E-mail: tohru@fbs.osaka-u.ac.jp

## ❖ 用語解説

### 注1)ATP 加水分解酵素

…エネルギーを蓄えている物質であるATPを加水分解してエネルギーを取り出す働きをもつ酵素のこと。

### 注2)ATP 合成酵素

…生物に不可欠なATPをADPとリン酸から合成する酵素。細胞膜やミトコンドリアの膜の外から内に流れる水素イオンのエネルギーを使って合成する。約10種類の蛋白質が数十個組み合ってきた超分子複合体で、モーターのような回転機構を持つことで知られる。

### 注3)V型ATPアーゼ

…ATPの加水分解エネルギーを利用して細胞内の小器官内のpHを調節するために働くイオンポンプ。細胞内の老廃物を分解するリソソームや神経伝達ではたらくシナプスなど、酸性環境が必要な場所に存在する。約10種類の蛋白質が数十個組み合ってきた超分子複合体で、モーターのような回転機構を持ち、回転する部分を回転子、動かない部分を固定子と呼んでいる。ATP合成酵素に良く似ているが、主にATP合成酵素と逆の反応を行っている。