

分野:生命科学・医学系 キーワード: 細菌べん毛、タンパク質構造、タンパク質輸送、細菌感染症

～立ち上がって、天井を掴む～ 細菌べん毛モーターが回る鍵、 固定子を“固定”するしくみを解明！

【研究成果のポイント】

- ◆ サルモネラ属菌べん毛モーターの固定子^{※1}が細胞壁に固定されることをはじめて実証
- ◆ 細菌べん毛モーターの回転力を出すには固定子が固定される必要があるが、そのしくみは不明だった
- ◆ X線結晶構造解析^{※2}と核磁気共鳴法(NMR)^{※3}から、固定子タンパク質 MotB が細胞壁に結合できる活性化型の構造と構造変化を解明
- ◆ 生物の持つモーターの回るしくみの解明はもちろん、新規抗菌薬開発の手がかりになると期待

❖ 概要

大阪大学大学院理学研究科の今田勝巳教授、名古屋大学大学院理学研究科の小嶋誠司准教授・本間道夫教授、横浜国立大学大学院工学研究院の児嶋長次郎教授の共同研究グループは、細菌のべん毛モーターが回るための鍵となる固定子をつなぎ止めるしくみを世界で初めて明らかにしました。(図1)

細菌はべん毛と呼ばれるらせん状の繊維をタンパク質でできたモーターを使ってスクリューのように回して泳ぎます。べん毛モーターには、電気モーターと同様に回転子^{※4}と固定子があり、両者の相互作用で力が発生します。このとき、力に負けないように固定子をしっかりと固定しないとモーターは回りません。べん毛モーターの固定子は、細菌の細胞壁であるペプチドグリカン^{※5}層に固定されると信じられていました。しかし、誰も固定子の細胞壁への結合を示したことはありませんでした。また、精製した固定子タンパク質は細胞壁に全く結合しないため、どのように固定子が固定されるのか、長い間謎でした。今回、共同研究グループは、モーターに組み込まれやすい変異体の実験から、固定子が細胞壁に結合することを世界で初めて示しました。また、変異体の固定子タンパク質の構造と構造変化を明らかにし、イオンを通しやすい活性型固定子に構造が変化すると、細胞壁に結合できるようになることがわかりました。細胞壁に結合するタンパク質は数多くあり、これらにも共通するメカニズムであると考えられます。細胞壁は多くの病原菌に存在する一方でヒトや動物細胞にはありません。本研究の知見は、生物の持つモーターの回るしくみの解明はもとより、新規抗菌薬開発の手がかりにもなると期待できます。

本研究成果は、2018年3月23日(金)午前1時(日本時間)、米国科学誌「Structure」にオンライン公開されます。

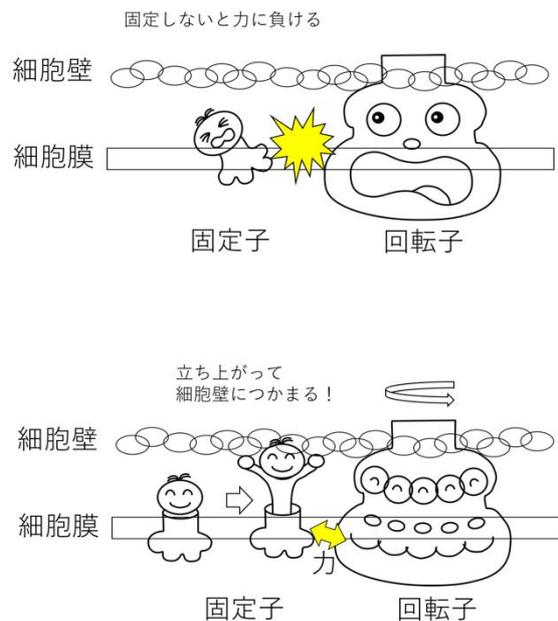


図1 固定子を“固定”するしくみ

❖ 研究の背景

多くの細菌は、べん毛とよばれるらせん状の線維を体から生やし、それをスクリーのように回転させることで水中を泳ぎます。べん毛の根元には、直径約 45 ナノメートルのタンパク質でできた極小のモーターが存在し、毎秒約 300 回転(毎分 1 万 8 千回転)の自動車のエンジンをはるかに超える猛スピードで回転します。モーターのエネルギー源は細胞の外から内に流れるイオン流で、極めて高いエネルギー効率で作動します。モーターは回転子と固定子で構成され、固定子中をイオンが流れると固定子と回転子が相互作用し、回転力が生じると考えられています(図2)。モーターが回転するには固定子を回転力に負けないようにしっかりと固定する必要があります。モーターの固定子ユニットは回転子の周りに組込まれると細菌の細胞壁に相当するペプチドグリカン層にしっかりと固定され、イオンを流し始めます。べん毛モーターの固定子ユニットは約 10 個ですが、個々のユニットは回転中のモーターに組込まれたり外れたりして交換され、モーターから外れた固定子はイオンを流さなくなります。このように、固定子のモーターへの組み込み・固定・イオン透過は連動しています。ところが、精製した固定子や固定子タンパク質はペプチドグリカンに全く結合せず、固定子の細胞壁への結合を誰も実証したことはありませんでした。固定子がどのように固定されるのか、そもそも本当に細胞壁に固定されるのか、大きな謎でした。

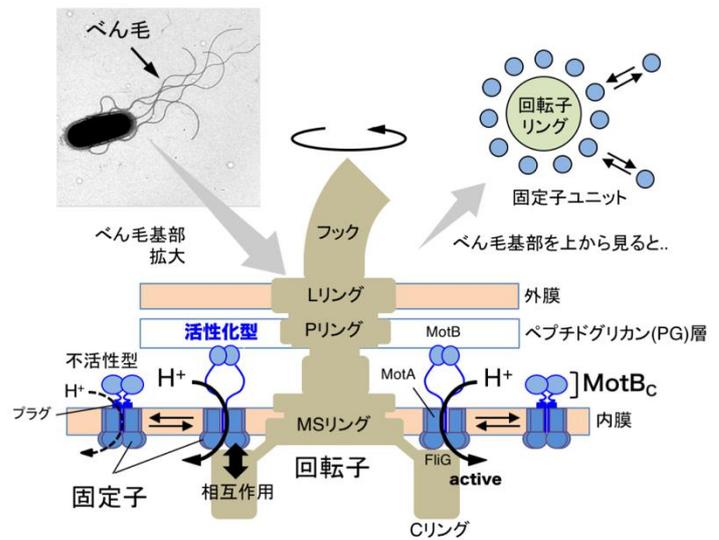


図 2:サルモネラ属菌べん毛モーターの模式図

❖ 研究の内容

共同研究グループは、サルモネラ属菌のべん毛モーターの固定子構成タンパク質の細胞壁側の部分(MotBc)に着目し、MotBcの変異体の中からモーターへ組み込まれ易く、モーターから外れてもイオンを通しやすい活性化型のままである変異(L119P 変異)を発見しました。この変異体を詳しく調べたところ、ペプチドグリカンに強く結合しました。そこで、大型放射光施設 SPring-8 での X 線結晶構造解析と核磁気共鳴(NMR)法を用いて変異体 MotBc の分子構造を解析し、野生型 MotBc の構造と詳細に比較しました。その結果、MotBc のヘリックス $\alpha 1$ が構造変化を起こしていることがわかりました(図3)。そこで、ジスルフィド架橋*6をつくる変異を導入し、架橋によりヘリックス $\alpha 1$ の構造変化を妨害したり還元剤を加えて架橋を切断したりしたときの、モーターの回転・固定子のモーターへの組み込み・イオン透過能を調べました。すると、架橋がかかるとモーターの機能が失われ、還元剤を加えると機能が回復し、還元剤を除くと再び機能が失われました。これらの結果から、MotBc のヘリックス $\alpha 1$ が伸びた構造に変化すると固定子の一部が伸び上がり、イオン透過経路を塞ぐ蓋(プラグ)が開くと同時に隠れていたペ

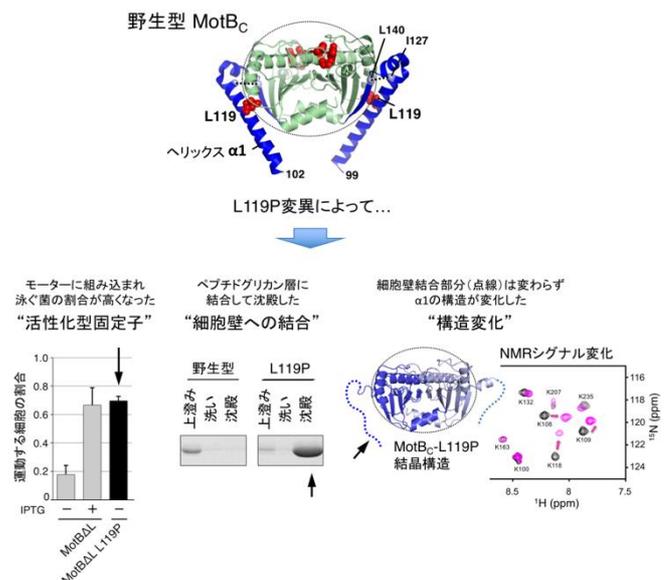


図 3 変異固定子の解析

Press Release

プチドグリカンへの結合部位が露出して、固定子が細胞壁にしっかり固定されることが明らかになりました(図4)。本研究は長い間謎であった固定子の細胞壁への固定を実証するとともに、固定子の組み込み・イオン透過の活性化・細胞壁への固定が $\alpha 1$ の構造変化で連携して起こることを明らかにしました。

❖ 本研究成果が社会に与える影響(本研究成果の意義)

べん毛モーターは、イオンの濃度差をエネルギー源とし、100%に近い高いエネルギー変換効率で高速回転するなど、現在の技術では人工的に実現できない高性能なナノマシンです。その作動原理の解明は、これまでにない超高効率モーターやナノサイズのモーターの開発を目指す上で極めて重要です。また、細菌の病原性と運動性は密接な関係にあり、運動性の理解と制御は細菌学の中心課題のひとつです。特に細胞壁は多くの病原菌に存在する一方でヒトや動物細胞にはありません。細胞壁に結合するタンパク質は数多くあり、今回明らかになった細胞壁へのタンパク質の結合を制御するしくみは、これらにも共通するメカニズムと考えられ、細菌特有の細胞壁結合タンパク質を標的とする新規抗菌薬開発の手がかりにもなると期待できます。

❖ 特記事項

本研究成果は、2018年3月23日(金)午前1時(日本時間)に米国科学誌「Structure」(オンライン)に掲載されます。

タイトル: “The helix rearrangement in the periplasmic domain of the flagellar stator B-subunit activates peptidoglycan binding and ion influx”

著者名: Seiji Kojima^{1*}, Masato Takao^{2*}, Gaby Almira^{3*}, Ikumi Kawahara³, Mayuko Sakuma¹, Michio Homma¹, Chojiro Kojima^{3,4} and Katsumi Imada² (*同等の貢献度)

所属: ¹名古屋大学大学院理学研究科, ²大阪大学大学院理学研究科, ³大阪大学蛋白質研究所, ⁴横浜国立大学大学院工学研究院

なお、本研究は、科学研究費補助金基盤研究(A)・(B)、挑戦的萌芽研究および新学術領域研究による支援のもとに行われました。また、本研究は大阪大学、名古屋大学、横浜国立大学が共同で行ったものです。本件は、名古屋大学及び横浜国立大学においても同時にリリースされます。

❖ 用語説明

※1 固定子

べん毛モーターにおいて、イオンを流しエネルギー変換を担うタンパク質複合体で、固定されており、回転しない。固定子内をイオンが流れると、回転子と相互作用が生じ、回転力が発生する。

※2 X線結晶構造解析

結晶にX線を当てたときに生じるパターンから結晶中の分子の構造を調べる実験手法。

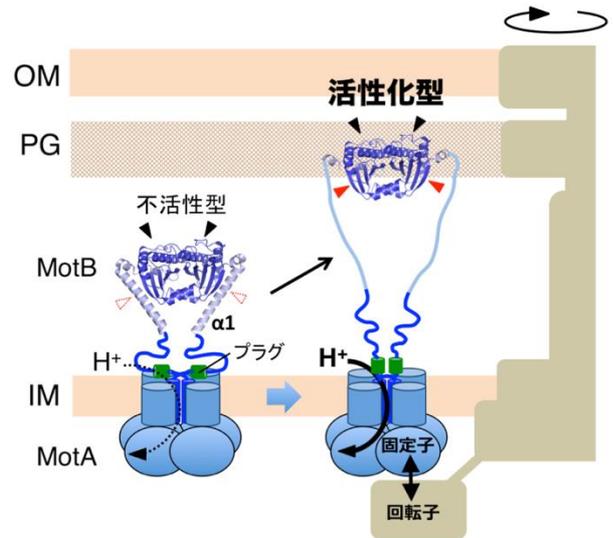


図4 固定子の組み込み・活性化・固定が運動するしくみ

モーターから外れた固定子は縮んだ構造を持つ。プラグと呼ばれるふたがイオンの通り道を塞いでいる。細胞壁に結合する部分は $\alpha 1$ が隠れている(白抜き赤三角)。固定子が回転子周囲になると活性化型に変化し、 $\alpha 1$ が伸びて細胞壁に結合する場所が露出し(赤三角)、細胞壁にしっかり固定される。また、 $\alpha 1$ が伸びるとプラグが開いてイオンが流れ、モーターが回転する。

※3 核磁気共鳴法(NMR)

磁場の中に置いた試料に電磁場を照射し、試料中の原子核が固有の周波数の電磁波と相互作用する現象(核磁気共鳴)を利用して、溶液中のタンパク質の構造情報を取得する実験手法。

※4 回転子

べん毛モーターにおいて回転する部分。リング状でべん毛繊維につながる。

※5 ペプチドグリカン

細菌細胞壁の主要構成物質。ペプチドグリカンは2種類の糖(N-アセチルグルコサミンと N-アセチルムラミン酸)の結合を繰り返し単位とする直鎖状の糖鎖を、短いペプチドが橋渡しするようにつないだ硬い網のような層状構造をもつ。この構造が細胞膜の外側をぐるりと取り囲み、細菌細胞を守る細胞壁としてはたらく。

※6 ジスルフィド架橋

タンパク質分子内あるいは分子間を、共有結合を介してつなげる(架橋と)生化学の実験手法。タンパク質の構成要素であるアミノ酸のシステインは、反応性の高いSH基を持っている。酸化条件下で2つのSH基の間で形成されるジスルフィド結合によって架橋がかかり、還元条件下で解離する。

❖ 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)
TEL: 06-6850-5455/5456 FAX: 06-6850-5455
E-mail: kimada@chem.sci.osaka-u.ac.jp

名古屋大学 大学院理学研究科 准教授 小嶋 誠司(こじま せいじ)
TEL: 052-789-2993 FAX: 052-789-3054
E-mail: z47616a@cc.nagoya-u.ac.jp

横浜国立大学 大学院工学研究院 教授 児嶋 長次郎(こじま ちょうじろう)
TEL: 045-339-4232 FAX: 045-339-4251
E-mail: kojima-chojiro-xk@ynu.ac.jp