YNU 横浜国立大学
YOKOHAMA National University

報道の解禁日（日本時間）
（ﾃﾚﾋﾞ，ﾗｼﾞｵ，ｲﾝﾀｰﾈｯﾄ）：平成 30 年 3 月 23 日午前 1 時
（新　聞）　　：平成 30 年 3 月 23 日 付朝刊

〒240-8501 横浜市保土ケ谷区常盤台 79-1

平成 30 年 3 月 22 日

記者会、記者クラブ 各位

～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！

横浜国立大学大学院工学研究院の児嶋 長次郎 教授、名古屋大学大学院理学研究科の小嶋 誠司 准教授と本間 道夫 教授、大阪大学大学院理学研究科の今田 勝巳教授らの共同研究グループは、細菌べん毛モーターが回るための鍵となる固定子をつなぎ留めるしくみを世界で初めて明らかにしました。べん毛モーターには、電気モーターと同様に回転子と固定子があり、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固定しないとモーターは回りません。固定子は細菌の細胞壁であるペプチドグリカン層に固定されると信じられていましたが、誰も固定子の細胞壁への結合を示したことがなく、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、この状態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化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病原細菌にも数多くあり、これらにも共通するメカニズムであると考えられます。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。この研究成果は、米国科学誌「Structure」において、2018 年 3 月 23 日午前 1 時（日本時間）にオンライン公開されます。

なお、本研究は、科学研究費補助金基盤研究、挑戦的萌芽研究、科研費新学術領域研究「運動マシナリー」、による支援のもとに行われました。

問い合わせ先

＜研究内容＞
横浜国立大学 大学院工学研究院
教授　児嶋　長次郎
TEL：045-339-4232　FAX：045-339-4251
E-mail: kojima-chojiro-xk@ynu.ac.jp

＜報道対応＞
横浜国立大学総務部広報・渉外課
TEL：045-339-3027
FAX：045-339-3179
E-mail：koho@ynu.ac.jp

【ポイント】

- サルモネラ属菌べん毛モーターの固定子が細胞壁に固定されることをはじめて実証。
- これまで、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 線結晶構造解析とNMR 解析から、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。

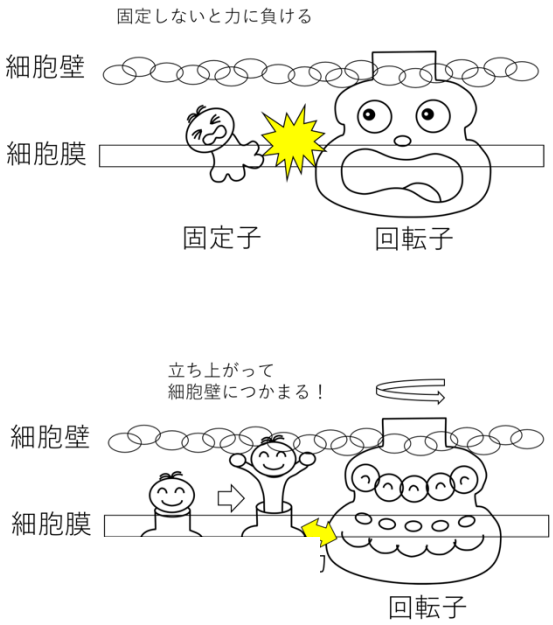

図1　固定子を”固定”するしくみ

【研究の背景】

多くの細菌は、べん毛とよばれるらせん状の繊維を体から生やし、それをスクリュ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（図2）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。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み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。固定子がどのように固定されるのか、そ

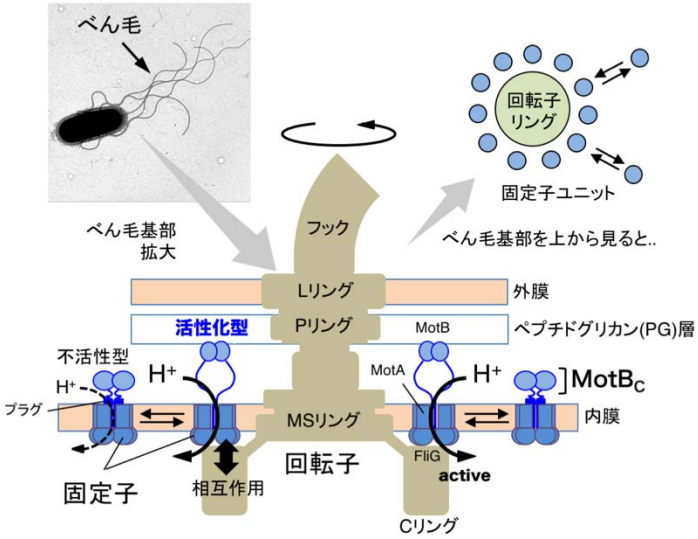

図2　サルモネラ属菌べん毛モーターの模式図

もそも本当に細胞壁に固定されるのか、大きな謎でした。

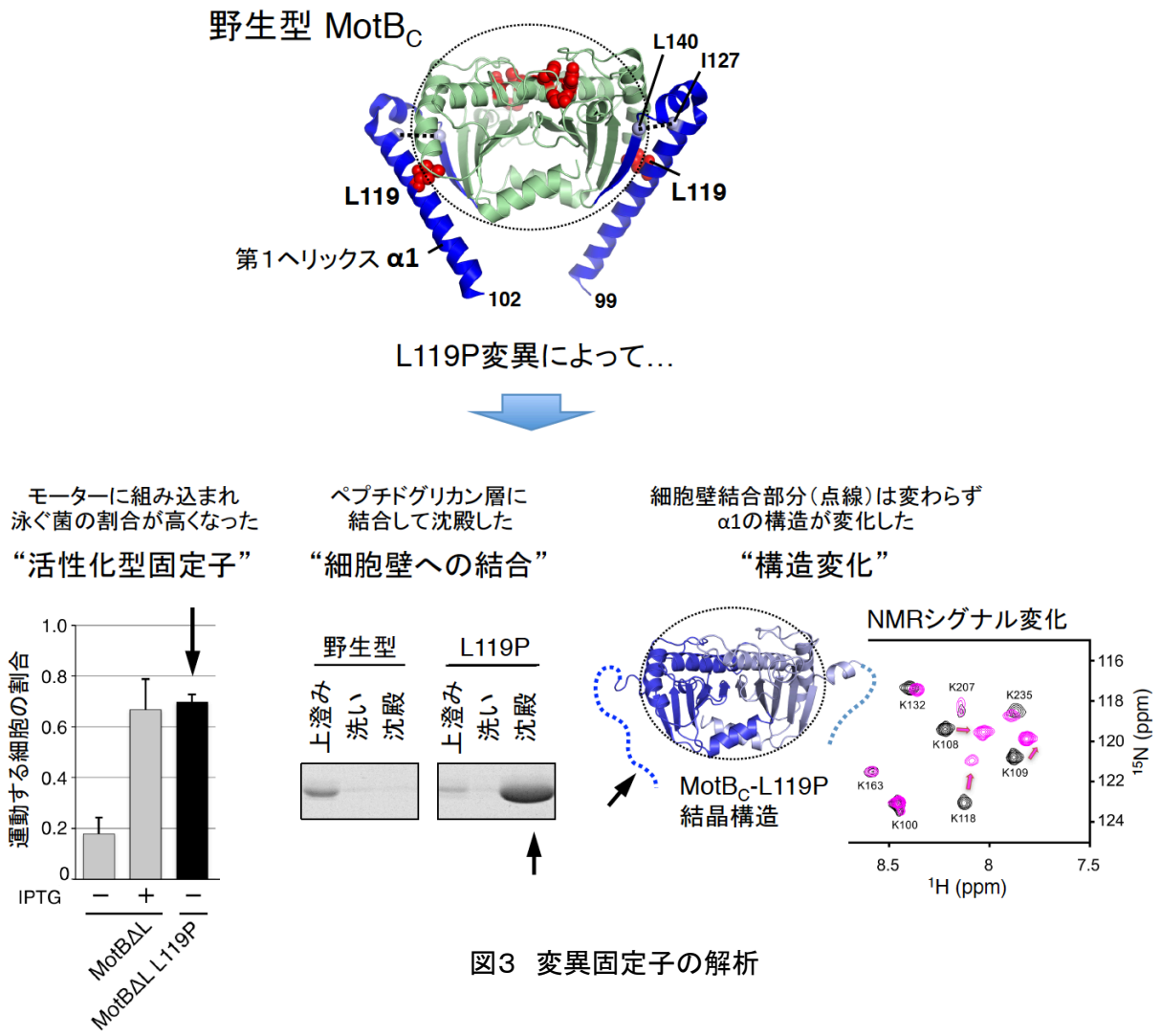

図3　変異固定子の解析

【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いる変異（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 を用いた 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 の第1ヘリックス（α1）が構造変化を起こしていることがわかりました。そこで、ジスルフィド架橋をつくる変異を導入し、架橋により第1ヘリックス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ました。これらの結果（図3）から、MotBc の α1 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α1の構造変化で連携して起こることを明らかにしました。

【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。

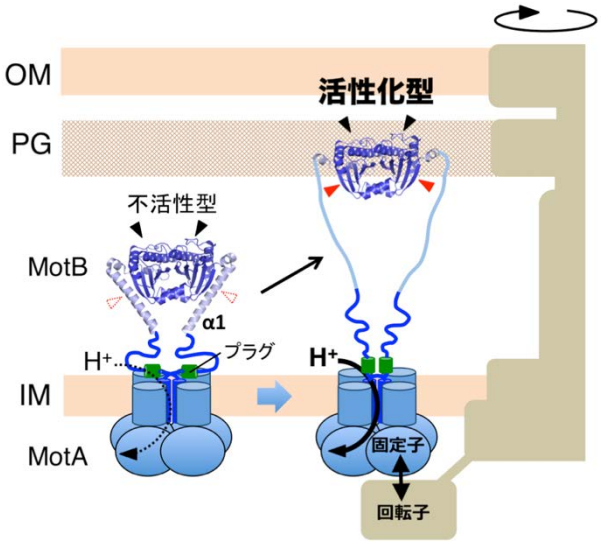

図4　固定子の組込み・活性化・固定が連動するしくみ
モーターから外れた固定子は縮んだ構造を持つ。プラグと呼ばれる蓋（ふた）がイオンの通り道を塞いでいる。細胞壁に結合する部分はα1が隠している（白抜き赤三角）。固定子が回転子周囲にくると活性化型に変化し、α1が伸びて細胞壁に結合する場所が露出し（赤三角）、細胞壁にしっかり固定される。また、α1が伸びるとプラグが開いてイオンが流れ、モーターが回転する。

【用語説明】

べん毛モーター：細菌がもつ運動器官のべん毛を回転させる、タンパク質でできたモーター。べん毛は細菌細胞の体から突き出た構造で、その根元の細胞表層にモーターが埋まっている。エネルギー源は細胞膜を介したイオン（主に H^+, Na^+が使われる）の電気化学勾配である。

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複合体。細胞壁（ペプチドグリカン層）に固定され、回転しない。回転子周囲に約 10 個程度配置されている。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。

回転子：べん毛モーターにおいて回転する部分の構造。細胞表層に埋まっており、複数のリングとそれを貫通するロッドからなる。その先端はユニバーサルジョイントとして働くフックを介してべん毛繊維につながっている。

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。

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（架橋という）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、反応性の高いスルフィドリル(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。

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して直鎖状の糖鎖を、短いペプチドが横に橋渡しするような形で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。

【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。なお、本研究は、科学研究費補助金基盤研究、挑戦的萌芽研究、科研費新学術領域研究「運動マシナリー」、による支援のもとに行われました。また、本研究は名古屋大学、横浜国立大学、大阪大学が共同で行ったものです。本件は、横浜国立大学、名古屋大学、大阪大学において同時にリリースされます。

【論文情報】

掲載誌：Structure

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

著者：Seiji Kojima[1]*, Masato Takao[2]*, Gaby Almira[3]*, Ikumi Kawahara[3], Mayuko Sakuma[1], Michio Homma[1], Chojiro Kojima[3,4] and Katsumi Imada[2] ([*] These authors contributed equally to this work as co-first authors)

[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

DOI: https://doi.org/10.1016/j.str.2018.02.016

【研究者連絡先】

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

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