

細菌べん毛モーター回転子の構造ダイナミクス ～生物由来ナノマシンの回転方向制御機構を解明～

名古屋大学大学院理学研究科（研究科長：杉山 直）附属構造生物学研究センターの本間 道夫（ほんま みちお）教授、宮ノ入 洋平（みやのいり ようへい）客員准教授、長浜バイオ大学バイオサイエンス学部（学部長：山本 博章）の白井 剛（しらい つよし）教授、土方 敦司（ひじかた あつし）特任講師、横浜国立大学大学院工学研究院（研究院長：渡邊 正義）の児嶋 長次郎（こじま ちょうじろう）教授らの共同研究グループは、細菌が持つ運動器官べん毛モーターを構成する蛋白質の一つ FliG 分子の構造動態を、核磁気共鳴法および分子動力学計算法を用いることで解明しました。FliG は、車でたとえるならクラッチを構成する部品のような役割をします。モーターの回転方向を制御する蛋白質で、複数の構造間を揺らぐことが、べん毛モーターの回転方向変換を制御して、前進と後退を決定するために重要な役割を担っていることが明らかになりました。

本研究成果は、米国科学誌「Structure」において、2017年9月14日午前10時（米国東部標準時間）にオンライン公開されました。

細菌べん毛モーター回転子の構造ダイナミクス ～生物由来ナノマシンの回転方向制御機構を解明～

【概要】

名古屋大学大学院理学研究科附属構造生物学研究センターの本間 道夫（ほんま みちお）教授と宮ノ入 洋平（みやのいり ようへい）客員准教授、長浜バイオ大学バイオサイエンス学部（学部長：山本 博章）の白井 剛（しらい つよし）教授、土方 敦司（ひじかた あつし）特任講師、横浜国立大学大学院工学研究院の児嶋 長次郎（こじま ちょうじろう）教授らの共同研究グループは、細菌が持つ運動器官べん毛モーターを構成する蛋白質の一つである FliG 分子の C 末端ドメイン (FliG_C) 構造動態を、核磁気共鳴法および分子動力学計算法を用いることで解明しました。FliG は、車でたとえるならクラッチを構成する部品のような役割をします。モーターの回転方向を制御する蛋白質で、複数の構造間を揺らぐことが、べん毛モーターの回転方向変換を制御して、前進と後退を決定するために重要な役割を担っていることが明らかになりました。

この知見をもとに、生物特有の回転方向制御機構が解き明かされれば、人工的にナノマシンを設計することで、自在に分子モーターを制御することができるようになり、医療や人工生命設計など、様々な分野に応用できることが期待されます。

本研究成果は、米国科学誌「Structure」において、2017年9月14日午前10時（米国東部標準時間）に公開されました。

【ポイント】

- 海洋性ビブリオ菌の FliG_C は、3 つのコンフォメーションを有し、複数の構造間を揺らいでいることが明らかとなった。
- べん毛の回転方向変換に異常を示す FliG_C-A282T 変異体では、コンフォメーション変化はみられなかった。
- $\alpha 1$ helix を介した動的な分子内相互作用が、べん毛の回転方向の変換に関与していることが明らかとなった。

【背景】

細菌は、"べん毛"という繊維状の運動器官を使って水中を泳ぐことができます。べん毛は螺旋形をしており、回転することで推進力を生み出すスクリューとして働きます。べん毛の根本には細胞膜と細胞壁を貫通した回転モーターがあり、"べん毛モーター"と呼ばれています。べん毛モーターは、直径が、わずか 45 ナノメートルという極めて小さなモーターですが、F1 マシンのエンジンの回転数に匹敵する 20,000 rpm という超高速で回転することができます。さらに、トップスピードから瞬時に回転方向を切り替えることも可能で、それでいて、ほぼ 100%に近いエネルギー変換効率を持つという極めて優れたモーターです。この高性能モーターの機能は、20 種類ほどの蛋白質によって達成されます。べん毛モーターの駆動部は"回転子"と"固定子"という二つの部分から構成されます。べん毛モーターを動かすエネルギー源は、細菌の細胞外から細胞内に流れ込むイオン流で、イオンが固定子の中にあるチャネルを流れて、その力を回転子に伝えることでモーターの回転力へと変換されます。

回転子を構成する蛋白質のなかで、FliG, FliM および FliN は互いに相互作用することで、大きなリング状の構造を形成します。このリング構造が、回転力の発生および

回転方向を高速で切り替えるスイッチング機構を制御しています。そのうち FliG は、固定子と相互作用することが知られており、べん毛モーターの回転運動において、主要な役割を担っていると考えられています（図 1 A）。

FliG は、N 末端ドメイン、中間ドメイン、C 末端ドメインから構成されています。これまでの研究から、ドメイン間の相互作用や、C 末端ドメインと固定子との相互作用が、回転方向の変換制御、トルク発生に重要な役割を担っていることが示唆されてきましたが、詳細な分子機構、相互作用様式の解明には至っていませんでした。

【研究の内容】

本研究では、遺伝子組み換え技術により、海洋性ビブリオ菌 *Vibrio alginolyticus* に由来する FliG 蛋白質の C 末端ドメイン（FliGc）およびべん毛モーターの回転方向に異常をきたすアミノ酸変異体を調製し、それらの構造情報を比較することで、回転方向の変換制御の解明を目指しました。その結果、野生型 FliGc は一つの分子において、一個に固定された構造にとどまるのではなく、主に 3 つのコンフォメーションを形成し、それらの構造間を行き来するダイナミックな性質を有していることが、核磁気共鳴（NMR）解析および分子動力学解析により明らかになりました。一方、282 番目の Ala 残基が Thr 残基に置換され、べん毛モーターの回転方向が時計回りにのみ固定されてしまう変異型 FliGc（FliGc-A282T）においては、そのような複数のコンフォメーションはみられませんでした。

FliGc には、3 つの α ヘリックスからなる C1 ドメインと、6 つの α ヘリックスで構成される C2 ドメインが存在しています。そのうち、C2 ドメインの 1 番目のヘリックス（ $\alpha 1$ ヘリックス）は柔軟性に富んでおり、C1 ドメインと C2 ドメインをつなぐ“蝶番”として働き、FliGc の構造に“複数の表情”を生み出していることが明らかになり（図 1 B）、FliGc のダイナミックな構造変換が、べん毛モーターの回転方向の変換制御を担っていることが示唆されました。

【成果の意義】

細菌の運動器官であるべん毛モーターは、細菌が自身の細胞の中で様々な蛋白質の部品を組み立てて作られる生体ナノマシンとして、医療や機械工学などの様々な分野から注目を集めています。べん毛モーターは 50 ナノメートル（2 万分の 1 ミリメートル）以下という小ささで、秒速 200~1000 回転以上という速さで回転します。このようなナノマシンは、現在の人類の科学力では人工的に作ることはできません。その原因の一つが、モーターの部品の立体構造がわかっていないことです。

本研究から、この生体ナノマシンの回転方向を制御する部品の構造動態が明らかとなりました。今回見つかった特徴的なダイナミクスが、高いエネルギー変換効率でモーターの回転方向を変換するためにも重要であることが予想されます。この知見をもとに、生物特有の回転方向制御機構が解き明かされれば、人工的にナノマシンを設計することで、自在に分子モーターを制御することができるようになり、医療や人工生命設計など、様々な分野に応用できることが期待されます。

【用語説明】

- べん毛：細菌の細胞表面から生えた螺旋状の運動器官。その根元には、細胞膜に埋め込まれた回転モーターが存在する。
- 回転子：べん毛モーターの構成要素の一つで、固定子と相互作用して回転力を生み出すだけでなく、回転方向の変換を制御しており、モーター機能の中核を担う。

【特記事項】

本研究は、科研費新学術領域「運動マシナリー」、国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) 創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業 (創薬等支援技術基盤プラットフォーム事業) の一環として行われました。

また、本研究は名古屋大学、長浜バイオ大学および横浜国立大学が共同で行ったものです。

【論文名】

掲載誌 : Structure

論文タイトル : " Structural and functional analysis of C-terminal region of FliG, an essential motor component of Vibrio Na⁺-driven flagella "

著者 : Yohei Miyanoiri*, Atsushi Hijikata*, Yuuki Nishino*, Mizuki Gohara, Yasuhiro Onoue, Seiji Kojima, Chojiro Kojima, Tsuyoshi Shirai, Masatsune Kainosho, Michio Homma (* These authors contributed equally to this work as co-first authors)

DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.str.2017.08.010>

A



B

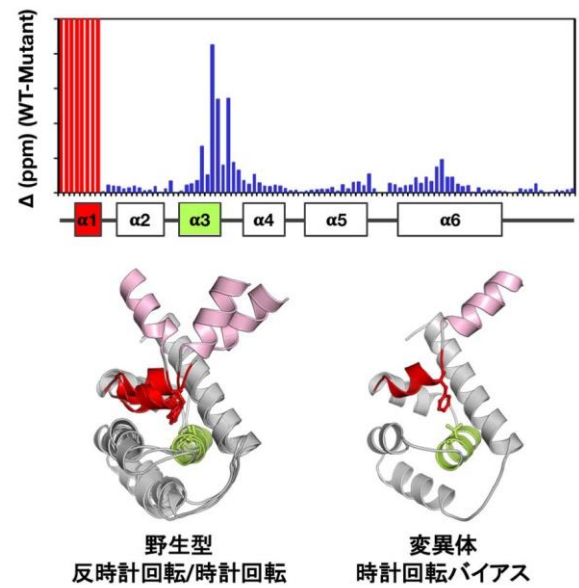


図 1.

A : べん毛モーター回転子構造の模式図。多くの細菌は細胞表面から生えた繊維（べん毛）をスクリューのように回転させることで、泳ぐための推進力を生み出す。根元には回転モーター（べん毛モーター）が存在し、モーターの駆動部は回転子と固定子から構成される。回転子部分の電子顕微鏡解析で得られた立体構造に、FliF, FliG, FliM, FliN の結晶構造で解かれている部位が当てはめられた。

B : 前進と後退時のモータークラッチ部位構造。本研究から明らかになった野生型と時計回転バイアス変異体の FliG 分子のモデルを示した。赤で示した $\alpha 1$ 部位に大きな変化が見られた。