

接着タンパク質の強靱な構造を解明

驚異的な微生物細胞の接着を媒介する巨大ナノファイバー蛋白質の立体構造の一部を解明:柔軟かつ強靱なファイバー構造が微生物の付着に寄与

名古屋大学大学院工学研究科生物機能工学分野の堀 克敏(ほり かつとし)教授らは、マックスプランク研究所(ドイツ)の Lupas 博士らとの国際共同研究により、微生物のもつ巨大ナノファイバー蛋白質の一部の立体構造を解明することに成功しました。

堀教授が 10 年ほど前に発見したこの蛋白質は、微生物細胞を様々な材料表面に強固に接着させる機能を有しており、堀教授により AtaA(アシネトバクター属細菌接着蛋白質)と名付けられました。堀教授は、3年前に AtaA の接着特性とアミノ酸配列を発表後、AtaA を利用した世界初の微生物固定化技術の開発に成功し、世界各国で特許*¹も取得しています。しかし、AtaA は、巨大で複雑な構造をした蛋白質であるため、その構造は明らかになっていませんでした。

堀教授らは、蛋白質の構造決定で実績のあるマックスプランク研究所(ドイツ)の Lupas 博士らと3年前から国際共同研究を開始し、この度、AtaA 蛋白質の一部の結晶化に成功、その構造を明らかにしました。構造解析により、AtaA 蛋白質は三本のポリペプチド鎖が三つ編みのように複雑に絡み合っ一本のファイバーを形成することで、外力に抗する強靱な構造をとっていることがわかりました。さらに、そのファイバー上には、ヒンジのような働きをする柔軟な構造が散りばめられており、ファイバーはその部分で曲がることも明らかになりました。以上より、AtaA ファイバーは柔軟かつ強靱な性質を発揮することができるような分子構造を有していることがわかりました。柔軟性と強靱性により、蛋白質の接着部位の固体表面へのアクセスを容易にし、微生物が高い接着力を発揮する鍵を握っていると堀教授らは考察しています。

本成果は、米国科学誌『The Journal of Biological Chemistry』(2016 年 2 月 19 日号)に掲載され、その表紙にも採用されました。

【ポイント】

- ・強力に表面に付着する微生物の接着蛋白質 AtaA の立体構造の一部を明らかにした。
- ・AtaA は、三本のポリペプチド鎖が三つ編みのように複雑に絡み合って一本のファイバーを形成することで、強靱性を発揮。
- ・ファイバー上には、ヒンジの働きをする柔らかい構造も散りばめられており、この部分で細長い AtaA ファイバーは曲がることできる。
- ・柔軟かつ強靱なファイバー構造は、微生物細胞が固体表面に効率的にアクセスして固着し、さらに外力に抗して強い接着性を発揮するのに重要であると考えられる。
- ・微生物固定化技術の基盤となるメカニズム解明につながる。
- ・同様な構造は、抗生物質耐性菌として世界的に問題となっているアシネトバクター属細菌にも広く保存されており、感染メカニズム解明の糸口になることも期待される。
- ・本成果は、ドイツのマックスプランク研究所のグループとの国際共同研究の成果である。本成果は、米国科学誌 *The Journal of Biological Chemistry*（2月19号）に掲載された。

【背景】

堀教授は10年ほど前、高い汚染物質分解能力と付着性を併せ持つバクテリアであるアシネトバクター属細菌 Tol 5 株から、微生物細胞を様々な材料表面に強固に接着させる機能を有する蛋白質を発見し、AtaA と名付けました。この遺伝子を取得し、アミノ酸配列を決定して3年前に論文発表しました。その後、薬の原料や化学品を生産する微生物にこの遺伝子を導入して、AtaA 蛋白質をつくらせることで、好きな材料表面に微生物を固定化して、効率的に物質生産する画期的な技術の開発に成功し、世界各国で特許*1を取得しました。現在、複数の企業と共同研究を展開し、本技術の実用化を目指しています。しかし、AtaA は3630アミノ酸からなる巨大なポリペプチド鎖三本で構成される複雑かつ巨大な蛋白質であり、その立体構造は全く明らかになっていませんでした。

【研究の内容】

堀教授は、AtaA のアミノ酸配列とその驚異的な接着力について論文発表した後に、AtaA と同じ蛋白質ファミリーの構造解析で世界をリードしてきているマックスプランク研究所の Lupas 博士らのグループと共同研究を開始しました。彼らとの国際共同研究により、堀教授らのグループは AtaA 蛋白質の一部の結晶化に成功し、その構造を明らかにしました。この構造はポイントで述べたような特徴を有しています。より具体的には、3本のポリペプチド鎖が、三つ編み様に編まれてコイルドコイルと呼ばれる超らせん構造や、ベーターストランドと呼ばれる構造が入り組んだ複雑なベータ構造を形成し、さらに疎水性コアと呼ばれる領域で3本鎖が強い相互作用で結びついています。このため、簡単には壊すことのできない、強い構造体を形成しています。すなわち、ファイバーは簡単には切れません。一方で、曲がることのできる柔軟構造もファイバー上に散りばめられており、剛直ではなく柔軟なファイバーを形成しています。この鞭のような強靱な構造が、AtaA の強い接着力には必須であると考えられます。また、ファイバーの

芯は、構造上細くなる部分が、ループと言われる構造で覆われており、ファイバーの太さが急激に変化しないような構造となっています。太さの急激な変化は、応力集中という現象を引き起こし、そこから壊れやすくなります。食品包装などの袋に切り込みが入っているのが、その応用例です。そのような部分が存在すると、そこからファイバーは簡単にちぎれてしまうと考えられますが、AtaA はそのような部分が補強されている、見事な分子構造をしていることがわかりました。

今回の研究で、AtaA の接着メカニズムそのものが明らかになったわけではありません。今回構造が明らかになった部分を削っても、AtaA の強い接着力は失われません。しかし、この部分の構造を少し崩すだけで、ファイバーは細胞上にきちんと立って伸びることができなくなり、細胞接着能力も失われることが明らかとなりました。柔軟かつ強靱な構造が、ファイバーが細胞から伸びて固体表面にアクセスし、強固な接着能力を発揮するのに重要であることが示されました。

【成果の意義】

他に類のない強力な微生物接着蛋白質 AtaA の構造上の特徴の一部が明らかになり、今後、微生物の固定化技術をさらに発展させるための基礎的知見が得られました。また、ファイバーの全体構造はAtaAとは異なりますが、今回、立体構造を解明した部分については、薬剤耐性で世界的に問題になっている病原菌を含むアシネトバクター属細菌の同類蛋白質中に広く保存されています。これらの細菌は、宿主に感染するときこの類の蛋白質で宿主にとり付くことが知られています。その重要な構造が明らかとなったことで、病原菌の付着を防いで感染を防止する技術の開発が、将来、可能になるかもしれません。

【用語説明】

マックスプランク研究所:

ドイツの基礎科学研究を担う公立研究所で、多くのノーベル賞学者を輩出してきた世界有数の研究所。日本で言えば理化学研究所がこれに相当する。

微生物固定化技術:

化学物質やバイオ燃料などを生産したり、有害物質を分解したりする有用な微生物を、担体に固定することで、連続的または繰り返し微生物細胞を利用できるようにする技術。従来は、高分子ゲルに微生物細胞を閉じ込めることで固定する方法が主流であったが、反応速度の低下や固定の非効率性などの問題があった。堀教授は、好きな材料で好きな形状に加工した材料表面に、接着蛋白質を使って直接、微生物細胞を固定化する新技術を開発し、注目されている。

【関連特許】

*1 特許第 5261775 号「微生物に対して非特異的付着性及び/又は凝集性を付与又は増強する方法及び遺伝子」

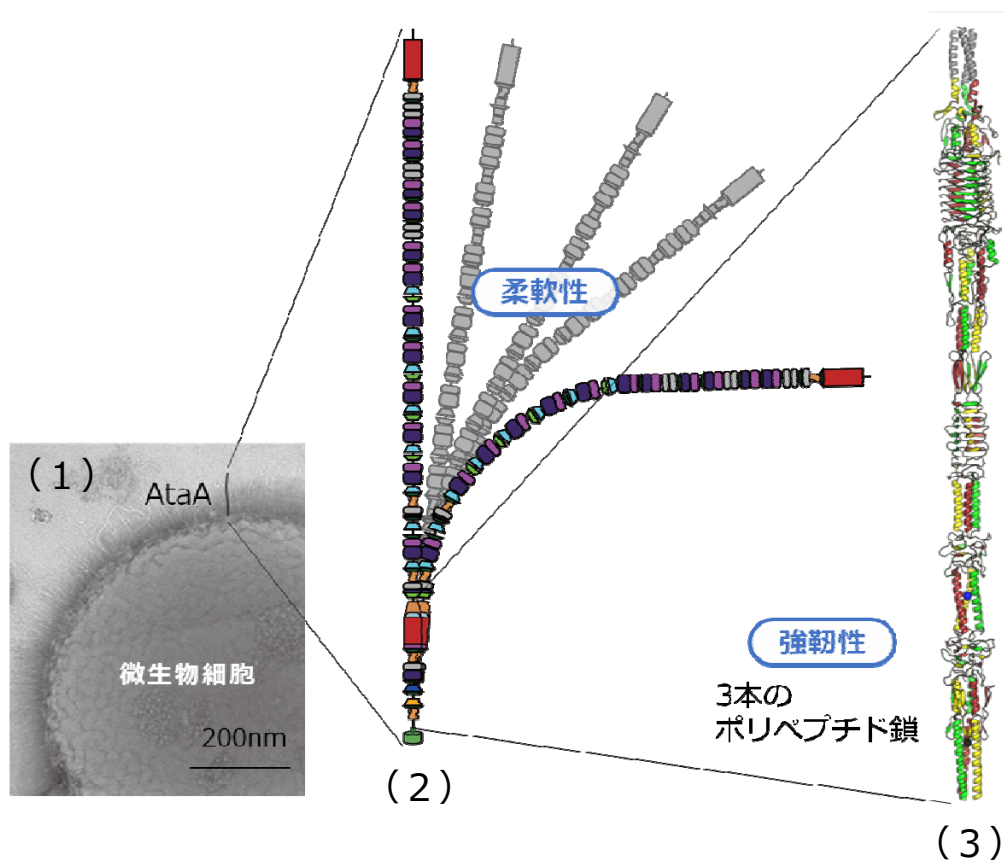
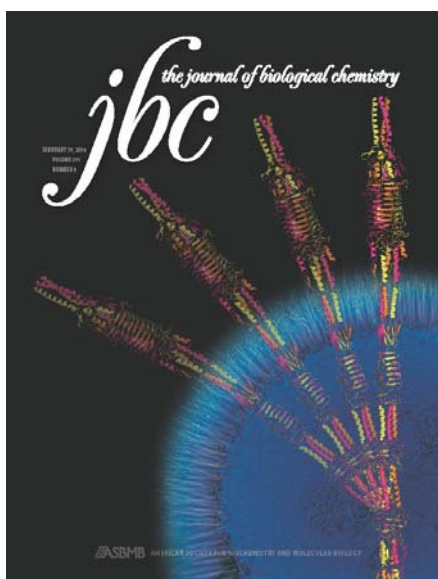


図 (1) アシネトバクター属細菌 Tol 5 の電顕写真
細胞表面から出ている細い線が AtaA ファイバー
(2) AtaA ファイバー(全長)のタンパク質模式
(3) 今回解明された AtaA ファイバー(一部)の立体構造



米国科学誌『The Journal of Biological Chemistry』(2016年2月19日号)の表紙