

## ナトリウムイオンで駆動される細菌の超分子ナノマシン 回転モーターの構造を電子顕微鏡で見る

名古屋大学大学院理学研究科（研究科長：杉山 直）の本間 道夫（ほんま みちお）教授、錦野 達郎（にしきの たつろう）大学院生のグループと、米国エール大学 Jun Liu 教授と博士研究員 Shiwei Zhu の共同研究グループは、細菌が持つナトリウムイオンの流れで回転運動する超分子ナノマシンのべん毛モーター構造を、電子顕微鏡により、これまでになかった詳細なレベルの構造を明らかにしました。べん毛モーターを単離することなく、菌の膜に埋まった生の状態に近い状態で観察することにより、これまで観察の難しかった構造を見ることができました。この観察を可能にしたのが、多べん毛変異株を用いたことでした。ビブリオ菌（コレラ菌の親戚だが病原性はない）は、普通、細胞の極に1本のべん毛を生やしますが、ある変異によって10本以上生えてくるようになります。この細胞を観察に用いることで、効率良く良好な像を得ることができ、解析の質とスピードが飛躍的に向上しました。ところで、ビブリオ菌のべん毛は大腸菌などと異なり、べん毛が外膜とつながった鞞の皮に囲まれています。皮を被ったべん毛の特徴的な構造を初めて明らかにすることができました。

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）」のオンライン版で2017年9月25日に公開されました。

## ナトリウムイオンで駆動される細菌の超分子ナノマシン 回転モーターの構造を電子顕微鏡で見る

### 【概要】

名古屋大学大学院理学研究科（研究科長：杉山 直）の生命理学専攻 本間 道夫（ほんま みちお）教授と大学院生 錦野 達郎（にしきの たつろう）のグループと、米国エール大学 Jun Liu 教授と博士研究員 Shiwei Zhu の共同研究グループは、細菌が持つナトリウムイオンの流れで回転運動する超分子ナノマシンのべん毛モーター構造を電子顕微鏡により、これまでにない詳細なレベルの構造を明らかにしました。べん毛モーターを単離することなく、菌の膜に埋まった生の状態に近い状態で観察することにより、これまで観察の難しかった構造を見ることができました。この観察を可能にしたのが、多べん毛変異株を用いたことでした。ビブリオ菌（コレラ菌の親戚だが病原性はない）は、普通、細胞の極に1本のべん毛を生やしますが、ある変異によって10本以上生えてくるようになります。この細胞を観察に用いることで、効率良く良好な像を得ることができ、解析の質とスピードが飛躍的に向上しました。ところで、ビブリオ菌のべん毛は大腸菌などと異なり、べん毛が外膜とつながった鞘の皮に囲まれています。皮を被ったべん毛の特徴的な構造も初めて明らかにすることができました。

### 【ポイント】

- 多べん毛変異株を用いることで、低温電子断層撮影像を多く得ることが可能になり、新しい構造を観察できた。
- 水素イオンで駆動される大腸菌のべん毛とはことなり、鞘を被ったべん毛の構造の詳細が明らかになった。
- ナトリウムイオン駆動型に特異的な T リング構造を観察可能になり、13 回対称性をもつ構造であることを明らかにした。

### 【背景】

*Vibrio* 属細菌（以下、ビブリオ菌）はグラム陰性の桿菌で、極べん毛で水中を泳ぐことができます。細菌のべん毛は、生物界で唯一の回転エネルギー変換を行う超分子ナノマシンです。これまでに、遺伝的な解析が詳細に行われ、50以上の遺伝子はその形態形成と機能発現に関与していることが明らかにされています。本研究の対象であるビブリオ菌のモーターは、ナトリウムイオンを使って毎秒1,700回転（毎分約10万回転）というジェットエンジンを遥かに超える超高速回転をしています。また、瞬時に回転方向を切り替えることができ、100%に近い効率でエネルギー変換することが知られており、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。ビブリオ菌の極べん毛は、外膜からつながっている鞘に囲まれ、基部に膜に埋まったモーターが存在します。モーターの回転力は、ナトリウムイオンが固定子複合体を流れることによって、構造変化が誘起され、回転子複合体と相互作用することで作られます。固定子は、膜タンパク質である PomA と PomB が 4 : 2 のヘテロ 6 量体として構築されます。回転子は基部体とも呼ばれ、外膜、ペプチドグリカン層、内膜にそれぞれ存在する L、P、MS リングとそれらリングを貫通するロッド、そして、MS リングの細胞質側に付着した C リングから構成されることが、H<sup>+</sup>駆動型のサルモネラ菌べん毛モーターでは明らかにされています。ビブリオ菌では、サルモネラ菌や大腸菌などの H<sup>+</sup>駆動型べん毛モーターにはない、Na<sup>+</sup>駆動型モーターに特異的な MotX と MotY から構成される T リングと、少なくとも FlgT を含む H リングと呼ばれる特徴的な構造が、P リング下方と L リングの外側に存在しています。C リングは 3 種類のタンパク質 FliG、FliM、FliN から構成されており、特に FliG は固定子と相互作用しトルク発生において重要なタンパク質です (図 1)。

#### 【研究の内容】

ビブリオ菌の *V. fischeri* や *V. cholerae* のべん毛モーターの構造が、低温電子断層撮影法 (cryo-electron tomography、cryo-ET) によって報告されています。今回、我々は *V. alginolyticus* から得られた多べん毛変異体を用いることで、ハイスループットの Cryo-ET 構造解析を可能にした。約 600 細胞から約 4000 個の基部体を再構成した。鞘が存在するものと鞘が存在しないべん毛の基部構造を比べることで、O リングと名付けた外膜の外の構造を初めて見出した。また、多数の基部体を詳細に解析すると、H リングと MS リングの距離が異なった構造に分類できることが分かり、H リングが人工モーターのワッシャーのように可変であることを示していると思われました。さらに T リング構成タンパク質遺伝子 *motX* と *motY* の欠損体を観察することで、T リングの構造を確認し、13 回対称性をもつ構造であることを明らかにしました。我々は、MotY と FlgT については、結晶構造解析をしており、電子顕微鏡の再構成した構造に、矛盾なくあてはめることができました。今回、鞘を持つ Na<sup>+</sup>駆動型モーターの構造的な特徴を Cryo-ET で明らかにすることができました (図 2)。

#### 【成果の意義】

本研究で対象としたべん毛モーターは、イオン流のエネルギーを高い効率で変換して回転し、瞬時の方向変換が可能で、さらにはタンパク質で出来た部品が自己集合して組み上がるといった、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。このモーターの詳細な構造を明らかにすることで、イオン

のエネルギーで駆動する超微小な人工ナノマシンを作成につながると期待されます。夢の生物人工回転モーターがデザインできれば、その応用は計り知れません。また、べん毛は、研究室での培養条件では、なくても全く生育に影響しません。しかしながら、べん毛を持った細菌は非常に多く存在しています。このことは自然環境では、運動性が生き残りに必須であることを示しています。どのように、非常に複雑なべん毛が進化してきたかを知る上でも、その詳細な構造の解明は不可欠です。

#### 【用語説明】

- ビブリオ菌：細菌の一種。本研究で用いた海洋性ビブリオ菌は海に棲み、無毒である。病原性を持つコレラ菌、腸炎ビブリオ菌は近縁種である。
- べん毛：細菌が持つスクリューのような運動器官。細胞の体から突き出た構造で、細菌の種類によって本数が異なる。
- 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。
- 回転子：機械モーターと同じように、べん毛モーターにおいて回転する部分の構造。細胞膜に埋まっており、複数のリングとそれを貫通するロッドからなる。
- 低温電子断層撮影法：細胞を急速冷凍してさまざまな角度から撮影した画像をコンピューターで3次元画像に変換する方法。損傷のない正確な姿を捉えることができる。

#### 【特記事項】

本研究は、科学研究費助成事業 新学術領域研究「運動マシナリー」の一環として行われました。

#### 【掲載誌情報】

掲載誌：Proceedings of the National Academy of Sciences（米国アカデミー紀要）

論文タイトル：Molecular architecture of the sheathed polar flagellum in *Vibrio alginolyticus*

著者：Shiwei Zhu, Tatsuro Nishikino, Seiji Kojima, Michio Homma, Jun Liu

DOI: 10.1073/pnas.1712489114

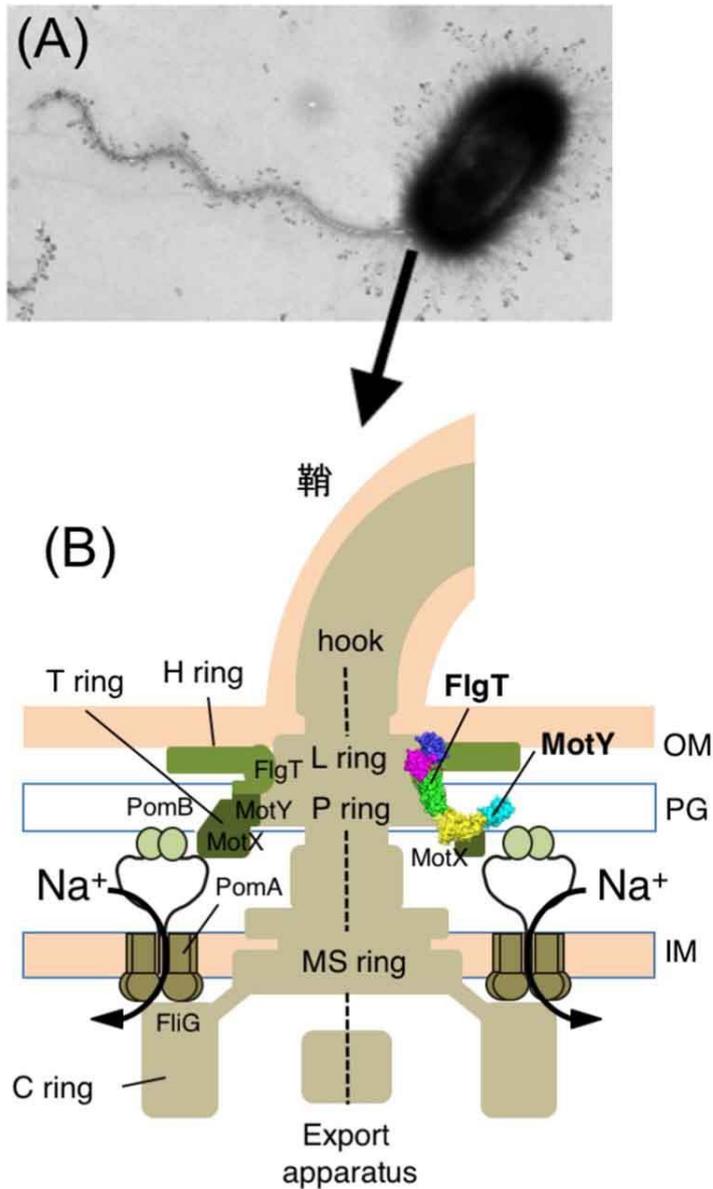


図 1 : ビブリオ菌べん毛モーター

(A) ビブリオ菌の電子顕微鏡写真。ビブリオ菌は細胞の端に一本のべん毛を持ち、スクリューのように回転させて泳ぐ。

(B) モーター部分の模式図。回転力を生み出すエンジン（べん毛モーター）はべん毛の根元に存在し、膜（外膜・内膜）に埋まっている。回転モーターは、固定子と回転子から作られている。さらに、回転子の回転を支える軸受け、自由継ぎ手として働くフック、スクリューのように動くフィラメントで構成される。固定子は回転子の周囲に複数個設置され、ナトリウムイオン (Na<sup>+</sup>) が固定子内を流れる際に、固定子と回転子が相互作用して、回転力が生み出される。回転を円滑に行う為に、TリングやHリングが必要である。

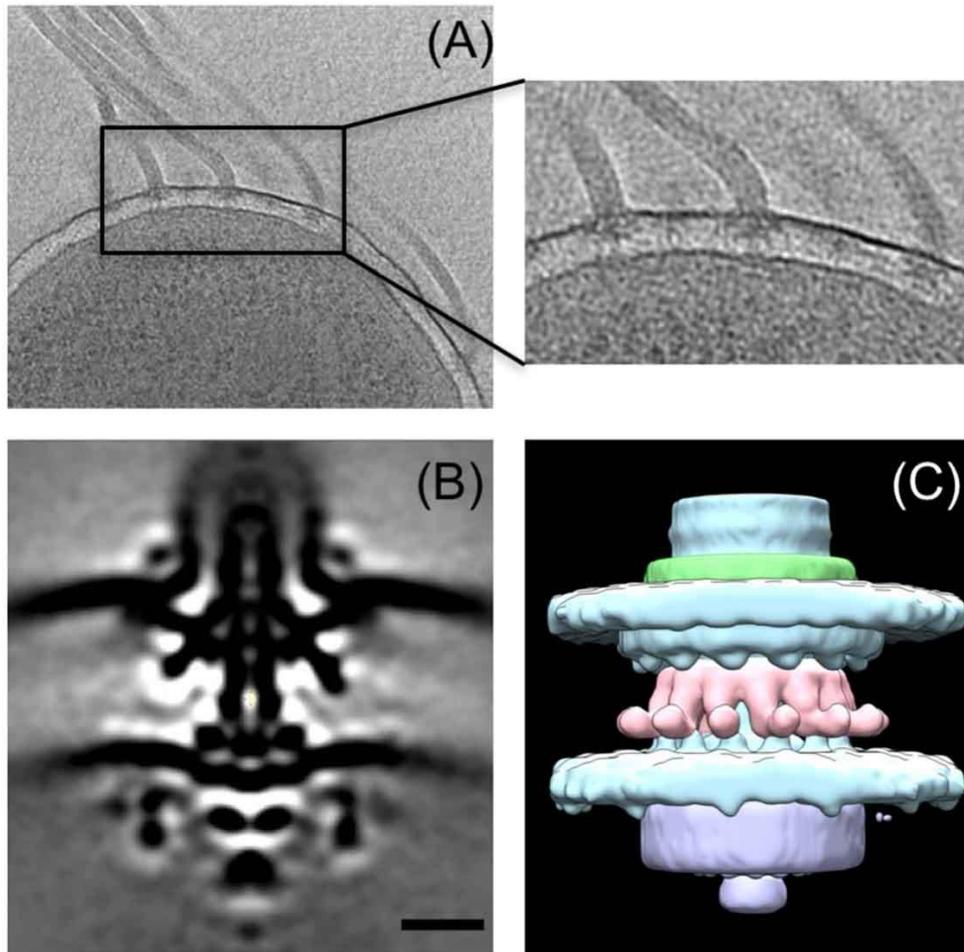


図 2 :

(A) ビブリオ菌多毛株を急速凍結して、電子顕微鏡観察した像。

(B) 撮影したべん毛基部体部分の像を重ね合わせて立体像を構築して、その断面を表示した。

(C) ビブリオ菌べん毛モーターの低温電子断層撮影像から作られた 3Dサーフェスレンダリング像。ピンクの構造が T リングを示す。