

細菌べん毛モーターの回転に必要な相互作用の解明 ～固定子と回転子が歯車の様にかみ合って回転力を生み出す仕組み～

国立大学法人東海国立大学機構 名古屋大学大学院理学研究科の寺島 浩行 助教（現所属：長崎大学熱帯医学研究所）、小嶋 誠司 教授、本間 道夫 教授の研究グループは、細菌のべん毛モーターを回転させるために必要な、固定子-回転子間の相互作用ネットワークの仕組みを世界で初めて明らかにしました。

細菌べん毛は、秒速数百回転することが可能なナノサイズ回転モーターです。ビブリオ菌のべん毛モーターに至っては、最高速で秒速 1700 回転することができます。モーター構造は、細胞膜上に作られる固定子と回転子と呼ばれるタンパク質複合体から成り立っています。そして、固定子と回転子が相互作用することによって回転力が発生すると考えられています。しかし、分子レベルでの相互作用の実態については、十分に明らかではありませんでした。

今回、研究グループは、部位特異的光架橋法とシステインジスルフィド架橋法を組み合わせた網羅的な相互作用解析を行い、固定子タンパク質 PomA と回転子タンパク質 FliG の間の相互作用ペアを明らかにし、固定子と回転子が歯車のように噛み合い回転するモデル（べん毛モーター回転ギアモデル）を提案しました。これにより、生物の持つ分子回転モーターの回転メカニズムの解明と、生物機械の応用に結びつく研究として期待されます。

本研究成果は、米国科学誌「Journal of Bacteriology」に 2021 年 2 月 22 日にオンライン公開されました。

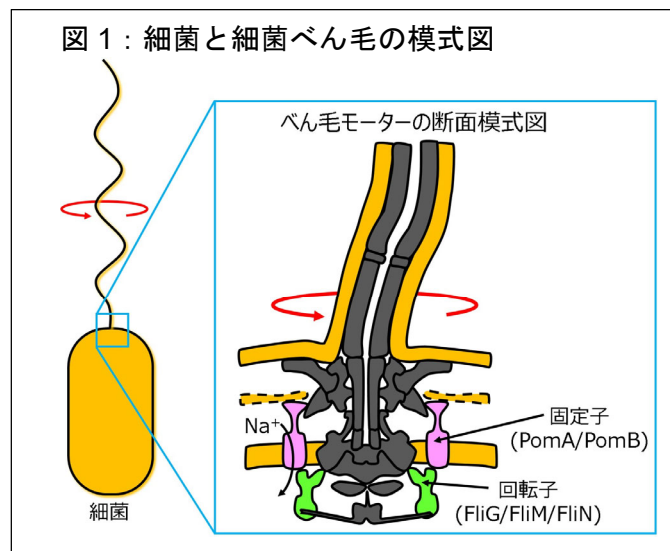
【ポイント】

- 細菌の運動器官（べん毛）を回転させるために必要な固定子-回転子間の相互作用ネットワークを、部位特異的光架橋法とシステインジスルフィド架橋法を組み合わせで解明。
- 固定子タンパク質 PomA の複数のアミノ酸残基が、回転子タンパク質 FliG と架橋形成する。
- PomA K89 残基と FliG R281 残基、FliG D288 残基が架橋形成ペアである。これを構造情報に重ね、固定子と回転子が歯車のように噛み合い回転するモデルを提案した。
- 塩基性アミノ酸 PomA K89 と塩基性アミノ酸 FliG R281 の間の静電的反発と、塩基性アミノ酸 PomA K89 と酸性アミノ酸 FliG D288 の間の静電的誘引がモーターの回転を引き起こすと推測された。生体回転モーターの作動機序の解明のみならず、将来の機能的な人工ナノマシンや分子デバイスの設計にもつながる成果である。

【研究背景と内容】

細菌は単細胞生物ですが、自身の生存のために、移動する手段を持っています。べん毛はその内の一つで、らせん状線維をスクリューのように回転させて水中を泳ぐことができます。べん毛を回転させているのは、根本にある直径約 45 ナノメートルのナノサイズ回転モーターです(図 1)。このモーターはタンパク質からできていて、F1 レース用のエンジンに匹敵する毎分約 2 万回転という高速回転が可能です。さらに、海に住むビブリオ菌という細菌では、一般的な細菌より 5 倍も速い毎分 10 万回転を達成することが可能です。しかも、これらのモーターは、エネルギー変換効率が 100%に近いとても高性能な分子モーターです。

べん毛モーターの回転力を作り出している部分は、機械モーターとの対比から、固定子¹⁾・回転子²⁾と呼ばれます。固定子は、細胞膜上に存在



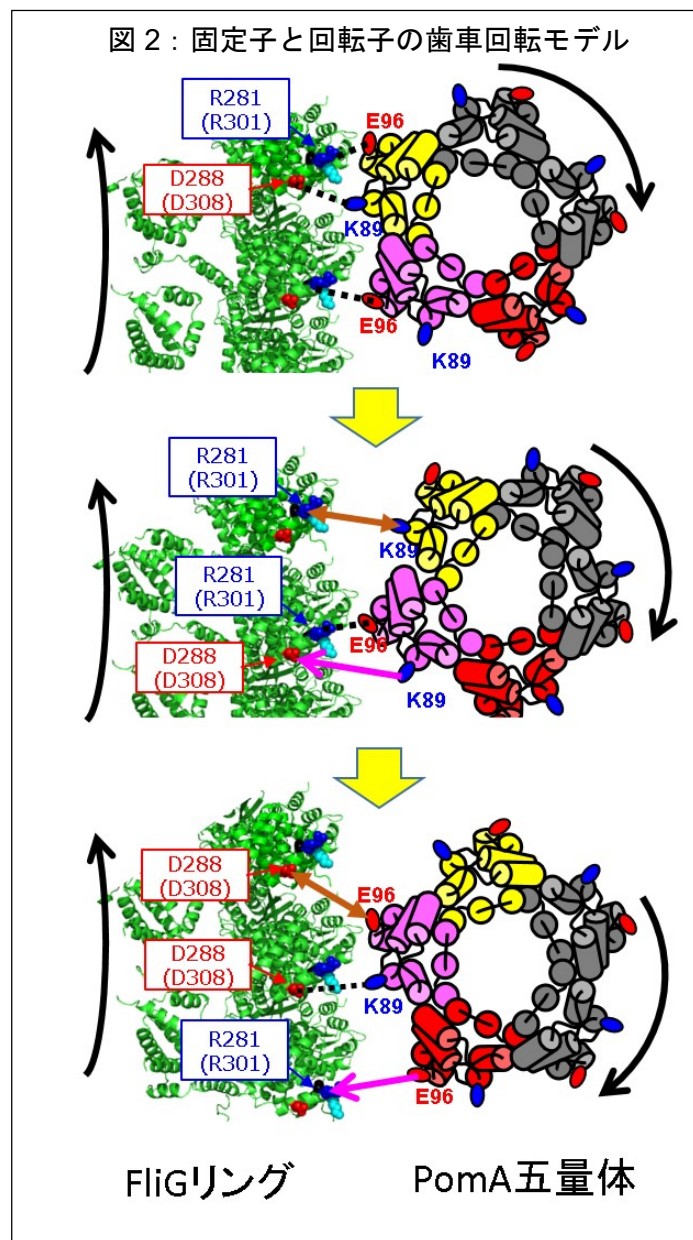
するタンパク質複合体で PomA/PomB から形成されます。回転子は、細胞膜直下に存在するカップ構造で FliG/FliM/FliN から形成されます。べん毛の回転は、その中の固定子 PomA と回転子 FliG が相互作用することで発生すると考えられています。しかし、固定子と回転子の相互作用が分子レベルでどのように起きているのか、十分に明らかではありませんでした。

まず研究グループは、部位特異的光架橋法³⁾という実験手法を使い、回転子 FliG と相互作用する固定子 PomA の位置を特定しました。部位特異的光架橋法というのは、タンパク質中の狙った位置に天然には存在しないアミノ酸を導入する技術の一種であり、今回の実験では紫外線照射によって近くのタンパク質と架橋するアミノ酸 pBPA を使用しました。その結果、pBPA を含む固定子に紫外線照射したとき、固定子 PomA の一番外側を向いた部位に存在する複数のアミノ酸残基が回転子と相互作用していました。また、逆に回転子 FliG に pBPA を導入して、固定子と相互作用するアミノ酸残基を特定しました。固定子、回転子それぞれの相互作用位置が同定できたので、次に相互作用残基ペアの同定を行いました。この実験では、システインジスルフィド架橋法⁴⁾をもちいました。この方法は、狙った位置にチオール基を持つアミノ酸システインを導入し、酸化処理によって非常に近傍にあるチオール基間でジスルフ

イド架橋を形成させるものです。その結果、PomA K89C と FliG R281C 間、PomA K89C と FliG D288C 間で架橋が形成され、これらの残基ペアが固定子-回転子間相互作用に重要であることを示しています。また、これまでの研究から、固定子-回転子間の静電的相互作用が重要であると示されていましたが、本研究から静電的な誘引力和反発力がべん毛の回転力を生み出していることが推測されました。また、構造情報に重ねると、固定子と回転子が歯車のように噛み合い回転すると考えられました(図2)。

【成果の意義】

回転ナノマシンであるべん毛モーターの回転メカニズムの解明は、将来の機能的な人工ナノマシンや生体デバイスの設計に大きく貢献することが期待されます。特に、生物界における回転モーターは、F型ATP合成酵素やV型ATPaseと細菌べん毛にしか存在しません。タンパク質型のナノマシンを考えるうえで、本研究は重要な知見となりました。また、細菌の運動性は、細菌感染や病原性発揮に関連しているため、感染症を予防する観点からも運動性の理解が重要と考えられています。例えば、今回明らかにした相互作用面にアタックするような小分子や薬剤は、べん毛による運動能を阻害する新規抗菌薬になる可能性があります。



【用語説明】

- 1) 固定子：べん毛モーターを回転させるタンパク質複合体。PomB二量体の周りをPomA五量体が囲む構造をしている。PomAの細胞質領域が回転子と相互作用し、回転力が発生する。
- 2) 回転子：べん毛モーターの内、回転する部分。FliG/FliM/FliNから形成された巨大なカップ構造を形成する。回転子が回転すると、つながっているべん毛線維へと回転が伝播する。
- 3) 部位特異的光架橋法：タンパク質の特定の狙った位置に、紫外線反応性の非天然アミノ酸pBPAを導入し、極近傍に存在するタンパク質と架橋形成させ、相互作用相手を同定す

る方法。ここで言う架橋とは、化学反応によってタンパク質ポリペプチド鎖間をつなげることをいう。

- 4) システインジスルフィド架橋法：タンパク質の特定の位置 2 か所にチオール基を持つシステイン残基を導入し、銅などの酸化剤を用いてチオール基間に共有結合を形成させ、相互作用残基を同定する方法。チオール基は、水素化された硫黄末端基であり、酸化によってジスルフィドを形成する。

【特記事項】

なお、本研究は、科学研究費助成事業基盤研究（B）、基盤研究（C）、挑戦的研究（萌芽）による支援のもとに行われました。

【論文情報】

雑誌名：Journal of Bacteriology

論文タイトル：Site-directed crosslinking identifies the stator-rotor interaction surfaces in a hybrid bacterial flagellar motor

著者：Hiroyuki Terashima*, Seiji Kojima, Michio Homma

所属：名古屋大学大学院理学研究科生命理学専攻

*現所属：長崎大学熱帯医学研究所

DOI：10.1128/JB.00016-21