

## 研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： 生物ナノマシン回転運動の一般化作動機構の解明

2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名(研究機関名・職名は研究参加期間終了時点)

研究代表者

相沢 慎一 (県立広島大学生命環境学部生命科学科 教授)

主たる共同研究者

本間 道夫 (名古屋大学大学院理学研究科 教授)

3. 研究内容及び成果

3 - 1. 研究課題全体の研究内容

バクテリアのべん毛モーターの回転機構については、回転が証明されてから 35 年になる。遺伝子特定、構造については研究が進んでいるが回転運動のメカニズムについては想像の域を出ないモデルがいくつかあるに止まっている。このチームを構成する二つのグループは回転機構について異なる観点から研究を行ってきた。相沢グループはこれまで定説に基づいた実験データに検証が必要との立場で、テザードセルによる回転計測の妥当性、定説と考えられているトルク発生の部位の再検討を目指して研究を進めてきた。本間グループ  $\text{Na}^+$  駆動のべん毛について既存のモデル検証の研究を進め、新しい知見を得ている。

3 - 2. 各グループの研究成果

### 相沢グループ

トルクの温度感受性について詳細に検証した結果、報告されているものは構造形成の温度依存性に起因するものと機能依存的温度感受性のものがあることが分った。後者について変異による解析を行った結果、FliG での変異であり、変異部位の立体構造からみて従来 Mot 複合体と相互作用してトルクを発生するとされていた部位ではないことが分った。トルク発生部位の従来の説の大きな根拠の 1 つが崩れたと考えられる。

回転運動計測、トルクの計測の系として従来からテザードセルが用いられている。べん毛基部体の構成蛋白質に蛍光蛋白質を導入し回転中のモーターの位置を詳細に計測した。それによって回転中心はモーター位置から外れており、その回転を詳細に見ると菌体が常にガラス面と接触して傾いた状態であることがわかった。それを可能にしているのがフックと呼ばれる構造の柔軟性であることが分った。これまでのトルク計測のデータについては再考を要する。

### 本間グループ

大腸菌  $\text{H}^+$  駆動型べん毛において、FliG と MotA 間の荷電アミノ酸残基を介した相互作用がトルク発生過程に重要であるという静電的相互作用モデル検証のため  $\text{Na}^+$  駆動型モーターの PomA (MotA に対応) と FliG の対応する荷電残基に変異導入を行い、それら残基の役割を調べた。それぞれの荷電残基を単独で置換した変異体や二重あるいは三重変異を導入したが、その結果完全に機能を失うものはほとんどなかった。静電的相互作用モデルに疑問を投げかけるものである。

$\text{Na}^+$  駆動型モーターでのエネルギー変換に最も重要だと考えられている PomA と PomB の N 末端に緑色蛍光タンパク質 (GFP) を融合したタンパク質の生菌中での局在を追跡したところ、細胞の極に顆粒状の蛍光として観察され、この蛍光顆粒が、べん毛構造に依存的に観察されることを明らかにした。また、蛍光顆粒が PomA と PomB のお互いを必要とすること、その組込みあるいは固定に B サブユニットの C 末端領域が必須であることを明らかにした。さらに、Pom 複合体の組込みに MotX および MotY が必要であること

も示した。さらに、極局在は  $\text{Na}^+$  依存的であり、Pom 複合体の  $\text{Na}^+$  チャネル活性を失った変異では局在はない。すなわち、Pom 複合体は、従来考えられてきたようにモーターに固定されているのではなく、状態によりダイナミックにべん毛基部体と相互作用している。モーターの機能解明をする上で大きな発見である。

#### 4. 事後評価結果

##### 4 - 1. 外部発表、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況

###### 外部発表件数

論文発表		著作物		招待講演		口頭発表		ポスター発表		特許	
国内	国際	国内	国際	国内	海外	国内	海外	国内	国際	国内	国際
0	35	12	6	5	11	41	12	61	38	1	0

相沢グループについてはバクテリアの鞭毛の回転機構と形成機構について従来の通説に根本的疑問を投げかけ、再検討することを目的とした研究であるが、回転におけるフックの役割に関する新知見、トルク発生における静電相互作用への疑問、鞭毛の長さ調節における物差し理論への反論など、この分野の根本に触れる重要な知見を発表している。「解明」といえば道半ばではあるが、十分な成果である。本間グループは Pom 複合体のダイナミクスを見事な実験で見せ、変異導入によって静電相互作用モデルに疑問を呈するなど、トルク発生機構に一石を投じた。論文発表上の都合で表現が弱められた感はあるが、期せずして両グループが補完しあう結果となった。

両グループとも国際雑誌に多数論文発表を行い、特に本間グループでは Nature への論文発表があり話題となった。海外での招待講演も多い。また、病原菌の Type-3 については研究としては成果がないが、応用技術として特許申請がある。

##### 4 - 2. 成果の戦略目標・科学技術への貢献

相沢グループは細菌研究に関して世界的に知られ、特に感染症に関係する輸送装置 Type-3 の発見者として知られている。今回、これに関する進展はなかったがその知見を元にした特許を申請している。また、茅領域の山下チームとバイオミネラリゼーションに関するシンポジウムを開催し、相沢チームの豊富なべん毛に関する知見、蓄積された試料が応用技術に繋がる進展をみせた。

##### 4 - 3. その他の特記事項

両グループはべん毛モーターについて、内外の研究者の参加を得て年1回の「べん毛モーター研究会」を主催している。この分野での日本の研究レベルは非常に高く、その中心的存在である。

相沢慎一 2005年ヒューマンフロンティアサイエンスプログラム 受賞

「Proteomics, genetics and ultrastructure of predator-prey interactions by *Bdellovibrio* bacteria」

(デロビリオ細菌による捕食者 被食者相互作用のプロテオミクス・遺伝学・超微細構造)

科学研究費 基盤研究(A) 本間道夫代表 平成18～21年

科学研究費 特定領域研究 本間道夫代表 平成18～22年