

(様式 1-2)

提出日：2021 年 5 月 14 日

2020 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

(2) 研究成果の概要

課題名	スピロヘータペリプラズムべん毛フィラメントおよびフックの構造解析	
研究代表者	氏名	中村 修一
	所属機関名・部局名	東北大学 大学院工学研究科 応用物理学専攻
	職名	准教授
事業名 (該当の事業名の右欄に○)		共同研究員
		超高磁場NMR 共同利用研究課題
	○	クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題
		客員フェロー
蛋白研受入担当教員名	加藤貴之	
<p>スピロヘータと総称されるグラム陽性らせん細菌群のべん毛は、外膜の直下、ペリプラズム空間に存在し、菌体外には露出していない。大腸菌やサルモネラのべん毛（外べん毛）はスクリュープロペラとして働くが、ペリプラズム空間で動作するスピロヘータべん毛は、菌体を回転または変形させて推力を生む内部アクチュエータといえる。スピロヘータべん毛のユニークな機能特性は、外べん毛とは異なる構造によって与えられるものと思われ、実際にスピロヘータ特異的なべん毛構成分子も多く見つかっている。細菌べん毛は一般的にモーター部と繊維部から成り、繊維部はさらにスクリュープロペラ（フィラメント）とユニバーサルジョイント（フック）に分けられる。最近の研究により、スピロヘータべん毛の繊維部分について構造依存的な機能特異性が示唆されているが、その分子機構は明らかではない。本研究では、スピロヘータべん毛のフィラメントおよびフックの構造解析を行い、内部アクチュエータ機能の分子機構を明らかにすることを目的とした。非病原性スピロヘータの一種である <i>Leptospira biflexa</i> strain Patoc I を親株としてフィラメント構成蛋白質 FcpB, FlaA1, FlaA2 の単一遺伝子または二重 (<i>flaA1-flaA2</i>) 破壊株と各遺伝子相補株を作製し、各変異株から単離、精製したべん毛繊維をクライオ電子顕微鏡で観察した。本菌のべん毛フィラメントはコアとそれを覆う外鞘から成り、菌体から分離されると大きくコイル状に湾曲した構造をとる。単粒子解析の結果、FlaB2 蛋白質のみで作られるコア部分の直線系モデルが完成し（分解能 2.8Å）、結晶構造の全長が精度よくフィットした。変異型フィラメント間の比較により、FcpA が外鞘の主要蛋白質であり、FlaB2+FcpA の基本構が FlaA2 によって曲げられることが分かった。さらに、光学顕微鏡による観察結果とあわせ、FcpB がフィラメントの剛性に関わることが示唆された。これらの結果は、湾曲構造と機能的な剛性を生む段階的な蛋白質間相互作用のシナリオを理解する重要な手掛かりである。フックについては、加藤貴之教授らによって開発された螺旋繊維の単粒子解析技術（Kato et al. 2019 Nat. Commun.）を利用して湾曲したスピロヘータべん毛フックを解析する予定で、フック関連変異体の作製中である。</p>		