

# 高分子構造科学研究室

<スタッフ> 今田 勝巳 (教授) 川口 辰也 (講師) 竹川 宜宏 (助教)

<研究のキーワード>

- (1) 生体高分子複合体
- (2) 超分子機械
- (3) 細菌べん毛
- (4) 蛍光蛋白質
- (5) 酵素
- (6) 構造解析

<令和6年度の主な研究活動概要>

当研究室では、細菌べん毛システムや蛋白質分泌装置の構造・機能解析を中心に生体高分子でできた分子機械の作動原理の研究を行っている。令和6年度は、(1) ナトリウム駆動型べん毛モーター固定子の構造、(2) べん毛回転子リング複合体の構造、(3) 枯草菌固定子のナトリウム依存的な構造変化についての研究を行った。

## (1) ナトリウム駆動型べん毛モーター固定子の構造<sup>1)</sup>

細菌はべん毛と呼ばれるらせん状の繊維を、蛋白質でできたモーターでスクリューのように回して泳ぐ。べん毛モーターは回転子と固定子で構成され、固定子の中を特定のイオンが流れるとべん毛は回転する。しかし、固定子のどこをイオンが流れ、特定のイオンをどのように見分けるのか不明である。我々はナトリウムイオンで駆動するモーターを持つ海洋性ビブリオ属菌の固定子に着目し、クライ

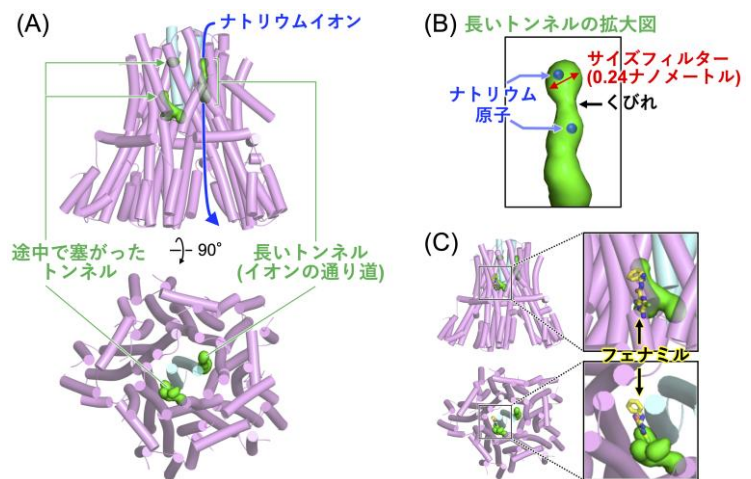


図1 ビブリオ属菌固定子の構造

(A) ナトリウムイオンの通りの位置。(B) ナトリウムイオンが通るトンネルの拡大図。(C) 阻害剤の位置。

オ電子顕微鏡を用いてナトリウムイオン結合状態と非結合状態の固定子の立体構造を解明し、ナトリウムイオンが通る場所の特定とイオンの種類を選別するしくみを明らかにした。また、ナトリウムイオンの流れを止める阻害剤が結合した構造も解明し、阻害剤がイオン流路を塞ぐのではなく、回転に伴う固定子の構造変化を阻害することでイオン透過を阻害することを明らかにした。

## (2) べん毛回転子リング複合体の構造<sup>2)</sup>

海洋性ビブリオ属菌 *Vibrio alginolyticus* は1本の極べん毛を持ち、ナトリウムイオンで駆動する。べん毛モーターは回転子と固定子で構成され、回転子は膜を貫通するMSリングと細胞質側でトルク発生に関わるCリングから成る。MSリングは FliF 蛋

白質の集合体であり、Cリングは FliG、FliM、FliN の3種類の蛋白質の集合体である。

我々は、ビブリオ属菌の S リングの構造をクライオ電子顕微鏡を用いて解析し、サルモネラ属菌の S リングと比較した。その結果、RBM3 ドメイン領域の分子配置が異なるにもかかわらず、RBM3 とβカラー領域を繋ぐ領域の角度が変化することでべん毛回転軸を包むβカラー領域の分子配置が両者で一致していることがわかった。

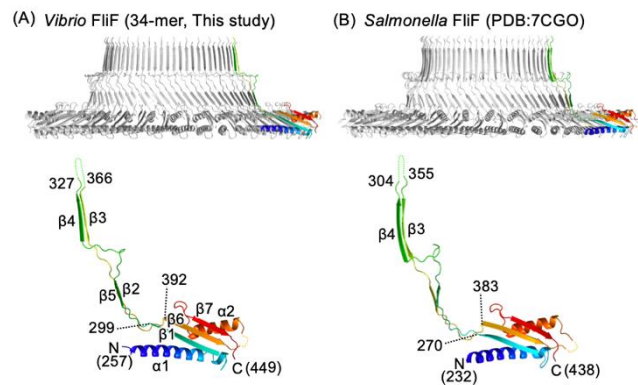


図2 ビブリオ属菌 S リング(A)とサルモネラ属菌 S リング(B)の構造比較

### (3) 枯草菌固定子のナトリウム依存性的な構造変化<sup>3)</sup>

グラム陽性菌である *Bacillus subtilis* のべん毛モーターの固定子は5分子の MotP 蛋白質と2分子の MotS 蛋白質で構成され、ナトリウムで駆動する。1回膜貫通型蛋白質である MotS の C 末ドメインは、ペプチドグリカン層に結合する活性を持ち、ナトリウム依存的に MotS が構造変化することで、十分なナトリウムイオン存在下でのみ固定子をモーターに組み込んで固定する働きをもつ。構造変化の詳細を解明するため、MotS の C 末ドメインの結晶構造をナトリウム存在下と非存在下で解析したが、両者に違いはなかった。そこで、膜貫通領域と C 末ドメインを繋ぐループ領域に注目し、ループ領域を含むフラグメントと含まないフラグメントの円二色性偏光スペクトルをナトリウム存在下と非存在下で調べ、このループ部分がナトリウム依存的なヘリックスコイル転移を起こすこと、さらに変異体蛋白質の同様な解析から、この構造変化を起こす鍵となるアミノ酸残基を特定した。

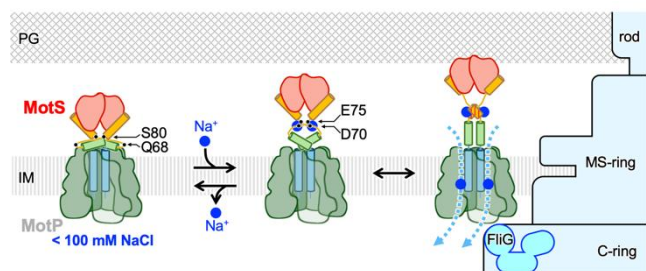


図3 枯草菌固定子のナトリウム依存性的な構造変化

#### <参考文献>

1. Nishikino, T.; Takekawa, N.; Kishikawa, J-I.; Hirose, M.; Kojima, S.; Homma, M.; Kato, T.; Imada, K. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* **2025**, 122:e2415713122. Epub **2024**
2. Takekawa, N.; Nishikino, T.; Kishikawa, J-I.; Hirose, M.; Kinoshita, M.; Kojima, S.; Minamino, T.; Uchihashi, T.; Kato, T.; Imada, K.; Homma, M. *mBio* **2024**, 15, e0126124.
3. Takekawa, N.; Yamaguchi, A.; Nishiuchi, K.; Uehori, M.; Kinoshita, M.; Minamino, T.; Imada, K. *Biomolecules* **2025**, 15, 302.