

《日本農芸化学会賞》

微生物「超チャネル」に関する分子生物学的・構造生物学的研究



京都大学大学院農学研究科食品生物科学専攻 教授 村田 幸作

細胞表面は、情報の受容と伝達、エネルギーの生産と変換、物質の透過と輸送など多様な機能を担い、それぞれに特化された構造体が関与している。しかし、局所的、かつ微細な構造と機能を除けば、細胞表面は構造的・機能的にほぼ均等と見なされ、細胞表面分子の流動・再編を伴う巨大な構造体の形成は想定しにくい。

多糖（アルギン酸）資化性細菌として分離されたスフィンゴモナス (*Sphingomonas*) 属細菌 A1 株は、細胞表面分子（膜分子）の流動・再編により、アルギン酸を取り込む巨大な構造体「体腔」を形成する。この体腔と連動した輸送装置は、既存のチャネル、トランスポーター、あるいはポンプなどとは本質的に異なる。「超チャネル」と命名したこの新規、かつ高度な分子装置の全体像を分子生物学的、構造生物学的観点から解析し、細菌細胞表面の動的構造、ならびに高分子物質の輸送機構と分解機構に関して多くの事実を明らかにした。

本講演では、体腔形成細菌 A1 株の特性、体腔の構造と機能、体腔の分子移植、鞭毛タンパク質や糖質関連酵素の構造機能相関とその進化的考察および応用、ならびに自然形質転換現象 (DNA 輸送) の普遍性の理解など、高分子物質の輸送にかかわる微生物「超チャネル」について得られた成果を紹介する。内容は多岐にわたるが、「微生物における巨大物質の輸送と代謝の高次バイオシステム」として集約されるものである。

1. 多糖輸送の細菌「超チャネル」

1.1 取り込み—体腔の形成と機能—

スフィンゴモナス属細菌（グラム陰性）は、シュードモナス属細菌から再分枝された細菌群である。本菌群は、外膜にリポ多糖をもたず、代わりに真核細胞の膜成分であるスフィンゴ糖脂質を含む。また、一般的に細胞表面は多数の膜分子で覆われている。ダイオキシンなどの環境汚染物質分解能も高く、応用微生物学上重要な菌群でもある。A1 株のさらなる特徴は、高分子物質（アルギン酸）の資化に際し、細胞表面に「体腔」（口径 $0.1 \sim 0.2 \mu\text{m}$ の孔構造）を形成することにある（図 1）。体腔形成細菌は、微生物学史上初めての記述である。

スフィンゴモナス属細菌としては初めて A1 株のゲノム DNA (4.6 Mb) とプラスミド DNA (pA1: 46 kb) の全塩基配列を決定し、本菌群の遺伝学的特性と機能多様性、および形質伝播機構を統合的に解析する基盤を確立した。A1 株の遺伝情報と外膜プロテオミクスにより、体腔は膜分子の再編によって形成される開閉自在の器官であり、体腔特異的タンパク質によりアルギン酸を濃縮してペリプラズムに輸送する機能をもつことを明らかにした。つまり、体腔形成細胞の外膜には、主に 8 種類のタンパク質 [鉄複合体トランスポーター (4 種類: p1~p4)、鞭毛タンパク質フラジェリン (2 種類: p5, p6)、リポタンパク質 (p7)、顆粒結合タンパク質 (p8)] が発現し、これらタンパク質の協働によりアルギン酸の細胞表面への濃縮とペリプラズ

ムへの輸送が行われる。

鞭毛非形成性の A1 株では、フラジェリン p5, p6 は鞭毛繊維の形成には関与せず、外膜にあって強力なアルギン酸結合能 ($K_d = \sim \text{nM}$) を示す。この能力は大腸菌鞭毛タンパク質にも確認され、フラジェリンの普遍的な性質であると考えられる。フラジェリン p5 の立体構造を決定することにより、アルギン酸結合ドメインを同定し、フラジェリンの外膜局在性を T4 フェージの宿主への接着機構との関連から推定した。また、フラジェリン p5, p6 の二重変異は致死的であり、単独変異では体腔形成も不全になることから、フラジェリンは細胞生存を左右する細胞表面構造とその機能の制御に関与していることを明らかにした。

これらの結果より、細菌細胞表面の流動性と新規な器官「体腔」創出機構、体腔と他の細胞表面装置（メソソーム、エンドサイトーシスなど）との構造的・進化的相関、およびフラジェリンと鞭毛の起源・進化・機能の理解に有用な視座を与えた。

1.2 輸送—巨大物質輸送機構と体腔移植—

A1 株のペリプラズムには、多糖（アルギン酸）結合タンパク質 (2 種類: AlgQ1, AlgQ2) が存在する。それらの立体構造を決定し、水 1 分子の出入を駆動力とした新規ドメイン開閉機構による多糖の結合・解離の詳細を明らかにした。結合タンパク質に捕捉されたアルギン酸は、内膜の ABC トランスポーターに渡され、細胞質に輸送される（図 2）。この輸送体の立体構造と輸送の制御機構を明らかにし、体腔と連動した高分子物質特異的 ABC トランスポーターの存在を立証した。これは、大腸菌の異物排出系である AcrAB-TolC システムなどとは本質的に異なる新規な輸送体である。これにより、巨大物質の資化に関する細菌の新しい分子機構の存在を示した。

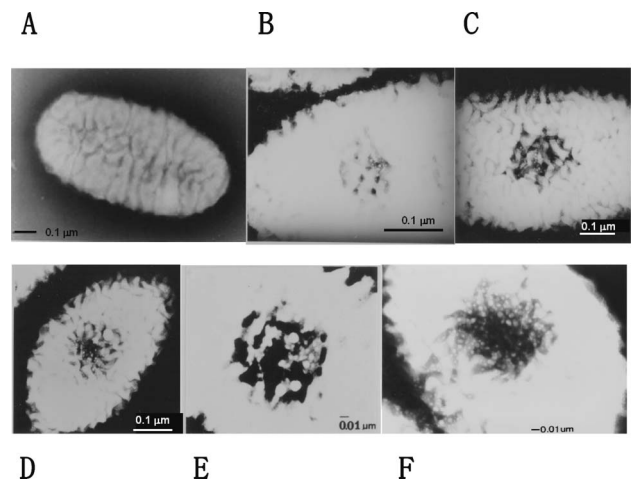


図 1 体腔の形成
培養時間: A, 0 時間; B, 3 時間; C, 7 時間; D, 21 時間. E, F, 体腔部位の拡大 (体腔部位での膜分子の消失とアルギン酸顆粒の集積を示す)。

