

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第 号
------	---------

氏 名 朱 世 伟

論 文 題 目

Structural and functional analysis of the periplasmic region of B subunit in the sodium-driven flagellar stator

(ナトリウム駆動型べん毛モーター固定子 B サブユニットのペリプラズム領域に関する構造機能解析)

論文審査担当者

主 査 名古屋大学大学院理学研究科 教授 理学博士
本 間 道 夫

委 員 名古屋大学大学院理学研究科 准教授 博士 (理学)
小 嶋 誠 司

委 員 名古屋大学大学院創薬科学研究科 教授 博士 (薬学)
廣 明 秀 一

委 員 大阪大学大学院理学研究科 教授 博士 (理学)
今 田 勝 巳

論文審査の結果の要旨

細菌べん毛モーターは、タンパク質で作られた回転分子機械であり、細菌が生育に有利な環境に向かって移動すること、あるいは、不利な環境から逃げることを可能にする。その回転力は、モーター固定子内のチャンネルを流れる水素イオンあるいはナトリウムイオンがエネルギーとして使われ、固定子と回転子が相互作用することで作られる。固定子部分は、回転子の周囲に動的に集合することで、モーターとして機能できるようになる。回転子の周りに適切な配向で、ペプチドグリカン層に固定子が結合配置することが、モーターの円滑な回転に必須であると考えられている。

ビブリオ菌のナトリウム駆動べん毛モーターの固定子は、PomA と PomB で構成される。PomB の C-末端ペリプラズム領域は、べん毛基部体の T-リングとペプチドグリカン層に相互作用して固定すると考えられている。ビブリオ菌 PomA サブユニットおよび PotB (ビブリオ PomB の N 末端領域と大腸菌 MotB の C 末端領域のからなるキメラ B サブユニット) 構成されたハイブリッド複合体は、プロトン駆動型の大腸菌のべん毛をナトリウム駆動モーターとしてとして働くことを可能にする。PotB から無駄なイオン流入を阻害する「プラグ」として機能する部分を含む残基 41 から 91 を欠損する変異体 (PotB Δ L) を作成すると、この変異体は運動できなかったが、この変異体から、運動できるサブレッサー突然変異体を得ることに成功した。サブレッサー変異は、PotB Δ L のペプチドグリカン結合ドメインと膜貫通領域をつなぐ B サブユニットに特徴的な α -ヘリックス上の点突然変異 (R109P) であった。この機能を回復した PomA/PotB Δ L (R109P) 固定子の過剰産生は、大腸菌の生育を阻害した。これは変異固定子が、高いナトリウム透過活性を有することを示唆している。R109 の周辺の変異体を作成することによって、R109 を含む α -ヘリックスの構造変化により、PotB Δ L の立体構造が変化し、膜貫通ヘリックスの適切な配置を復元することで、機能的なチャンネル孔形成が可能になったと推測された。

既に構造決定されているために、PomB の C 末端断片 (PomBc) の結晶構造を 2.1 Å の分解能で決定し、大腸菌 MotB の構造と比較した。それらの構造情報は、固定子が回転子に集合する際に PomBc の N 末端領域に大きな構造変化が起こることを示唆していた。構造に基づいて、*in vivo* でのジスルフィド架橋実験のため PomB に 2 つの Cys 残基を導入した二重変異体を作成して運動能を調べた。その結果、いくつかの組み合わせで運動能が阻害された。その運動阻害は還元剤を加えることで回復することができた。これらの実験から、PomB の $\alpha 1$ ヘリックス (154-164) の N 末端の約三分の二部分の構造が、固定子が集合して活性化するために変化するのだろうと推測された。また、架橋して機能を欠損しても、固定子の集合やイオン透過性に影響を与えなかったことから、 $\alpha 1$ ヘリックスと PomBc のコアドメイン間のコンホメーション変化は、回転子に固定子が集合する際の最終段階で起こると考えられる。

本研究は、C 末端 $\alpha 1$ ヘリックスと B サブユニットのコアドメインの構造変化が、固定子の回転力発生機能と固定子を回転子の周りに集合する際に重要であることを実証した。さらに、動的な B サブユニットの構造変化により、固定子複合体のチャンネルが開口し、イオン流入が誘発され、回転力が発生する機構の理解に大きく貢献した。よって、申請者は博士 (理学) の学位を授与される資格があると認められる。