

別紙 4

報告番号	※ 乙 第 号
------	---------

主 論 文 の 要 旨

論文題目 サルモネラ属菌べん毛Ⅲ型輸送シャペロン FlgN および
FliT の機能と構造に関する研究

氏 名 南野 実紀

論 文 内 容 の 要 旨

多くの細菌はべん毛と呼ばれる細胞外へ長く伸びる繊維状の運動器官を持っている。べん毛基部に存在するⅢ型蛋白質輸送装置が細胞質内で合成されたべん毛蛋白質を認識してべん毛先端へ輸送することにより、べん毛が細胞表層に構築される。輸送装置は6種類の膜蛋白質 (FlhA, FlhB, FliO, FliP, FliQ, FliR) からなる輸送ゲート複合体と3種類の可溶性蛋白質 (FliH, FliI, FliJ) からなるATPaseリング複合体から構成される。これら蛋白質に加え、基質特異的Ⅲ型輸送シャペロンとして働く、4種類の細胞質蛋白質 (FliA, FlgN, FliT, FliS) が存在する。Ⅲ型輸送シャペロンはべん毛構築過程に応じて機能を切り替える多機能性蛋白質である。これらのシャペロンが輸送装置構成蛋白質と相互作用して必要なタイミングで必要量の輸送基質蛋白質を細胞外へ送り出す。さらに、これらのシャペロンが自身の結合パートナーとの間で離合集散サイクルを巧みに繰り返して非常に複雑な動的相互作用ネットワークを形成する。しかしながら、輸送シャペロンが自身の多機能性を切り替える分子機構や、輸送シャペロンが形成する動的相互作用ネットワークを支える分子基盤は未だ解明されていなかった。

本研究では、べん毛Ⅲ型輸送シャペロン FlgN および FliT の機能構造を原子レベルで解明することを目的とした。まずは X 線構造解析に適したサルモネラ属菌由来の FlgN および FliT の結晶化を行い、得られた結晶構造に基づいて変異体の解析を行った。FliT シャペロンでは、FliI や FliJ が、FliT の $\alpha 1$, $\alpha 2$ および $\alpha 3$ ヘリックスからなるコアドメイン (FliT_N) に存在する非常に高く保存された疎水性アミノ酸残基からなる溝に結合すること、FliT の C 末 $\alpha 4$ ヘリックスが FliT_N の疎水性の溝と相互作用することで FliI や FliJ に対する FliT の結合親和性が変化することを見出し、

この $\alpha 4$ ヘリックスが FliT の結合パートナーに対する結合親和性を巧みに制御する構造スイッチであることが示唆された。FlgN シャペロンの変異体解析からは、輸送基質蛋白質 FlgK が FlgN の $\alpha 3$ ヘリックスに結合すること、 $\alpha 1$ と $\alpha 2$ ヘリックスをつなぐ Nループ領域を介して $\alpha 1$ ヘリックスが $\alpha 2$ と $\alpha 3$ ヘリックスの間の疎水性の溝から解離して伸びた構造に変化すると、FlgK が $\alpha 3$ ヘリックスから解離することを明らかにし、この Nループが $\alpha 1$ ヘリックスのコンフォメーションを切り替える構造スイッチであることが示唆された。さらに、遺伝学的及び生化学的解析により、べん毛Ⅲ型輸送シャペロンが FlhA の C 末細胞質ドメイン (FlhA_C) に結合することにより、輸送基質蛋白質が効率よく輸送ゲート複合体へリクルートされること、さらに各輸送シャペロン・輸送基質複合体に対する FlhA_C 結合親和性の違いによってべん毛繊維の構築順序が決定されることが示唆された。