

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 乙 第 号
------	---------

氏 名 南野 実紀

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

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 大阪大学大学院理学研究科 教授 博士（理学）今田 勝巳

委 員 名古屋大学大学院理学研究科 教授 博士（医学）木下 専

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

論文審査の結果の要旨

別紙 1-2

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。べん毛の基部に存在する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) が輸送に必要である。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。これらの輸送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、これらの輸送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解明されていなかった。

本研究では、最初に 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 の結晶化が行われ、その得られた結晶構造に基づいて変異体の解析が行われた。輸送シャペロン FliT 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が明らかにされ、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。輸送シャペロン FlgN 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 ループ領域が構造変化して $\alpha 1$ 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が明らかにされ、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、遺伝学および生化学的解析により、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 への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というモデルが提案された。

以上の結果は、細菌べん毛のもつⅢ型蛋白質輸送の分子機構の解明に大きく寄与したと評価される。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。