

Title	Mechanism of Length Control and Self-Assembly of the Bacterial Flagellar Hook
Author(s)	守屋, 奈緒
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/49301">https://hdl.handle.net/11094/49301</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	もりやな お緒 守 屋 奈 緒
博士の専攻分野の名称	博 士 (生命機能学)
学位記番号	第 21594 号
学位授与年月日	平成 19 年 9 月 26 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 生命機能研究科生命機能専攻
学位論文名	Mechanism of Length Control and Self-Assembly of the Bacterial Flagellar Hook (バクテリアのべん毛フックの長さ制御と自己構築の分子機構)
論文審査委員	(主査) 教授 難波 啓一 (副査) 教授 近藤 寿人 教授 柳田 敏雄 教授 浜田 博司

### 論文内容の要旨

サルモネラ菌の運動器官であるべん毛は、基部体、フック、繊維と呼ばれる 3 つの部分構造で構成される超分子複合体である。べん毛は基部体、フック、繊維の順に構築され、その伸長は細胞から遠い側の端にべん毛蛋白質がキャップ蛋白質の助けにより連続的に重合することによって起こる。細胞質内で合成されたべん毛蛋白質は、べん毛基部の細胞質側に存在する独自の蛋白質輸送装置により細胞膜を透過して、べん毛の中心チャンネルを通して効率よく先端へと運ばれる。

フックは回転モーターである基部体とスクリューである繊維を連結する長さ 55 nm のらせん型構造体である。フックは、フックキャップ (FlgD) の直下にフック蛋白質 FlgE が順次重合することで構築される。しかし、その長さ制御と自己構築の分子機構についての詳細は明らかではない。本研究は、フックの長さ制御と自己構築の分子機構の解明を目的とした。

フックの長さは、輸送装置の基質特異性がフック完成時にロッド/フック型から繊維型へスイッチすることで制御され、フック構築中に時折分泌されるフック長制御蛋白質 FliK が直接関与する。FliK は N 末端 (FliKN) および C 末端 (FliKC) の 2 つのドメインから成る水溶性蛋白質である。分泌中の FliKN はフックの長さが既定値に達したことを感知するセンサーであり、その情報を輸送装置に伝達するとともに、輸送装置の基質認識モード切り替えに重要な FliKC と FlhB の C 末端側の細胞質ドメイン (FlhBc) との相互作用を制御すると考えられている。しかしながら、FliK がどのようにしてフックの完成を感知し、その情報を FlhBc に伝えるのかは不明であった。この研究以前に、フックの完成感知機構のモデルの一つとして分子物差しモデルが提案されていた。そこで、FliK が分子物差しとして機能するか否かを検討するため、FliK とフック基部体構成蛋白質との相互作用を解析した。その結果、FliK は FlgD と強く、FlgE と弱く相互作用し、FliKN がそれらの相互作用に必須であることが判明した。次に、野生株に比べて大量の FlgE が細胞外に分泌されているにも関わらず、フックの長さが野生株に比べて短い *flgE* 変異株の解析を行った結果、FliK の分泌頻度と FlgE の重合効率がフックの長さ制御において重要であること、FlhBc の部位特異的自己分解反応が輸送基質特異性のスイッチ前に FlgE の輸送速度を低下させるタイマーとして機能する可能性が示唆された。以上の結果をもとに、べん毛蛋白質輸送装置の基質特異性スイッチとフックの長さ制御に関する次のようなモ

デルを提案した。

FliKはその輸送中にFliKc部分を輸送装置の細胞質側に残したまま、そのN末端をフックキャップに結合してロッド+フックの長さを測定する。フックの長さが55 nmに近づくころにFlhBcの自己分解が起こり、FlgEの輸送速度が低下してフックの成長速度が低下する。フック長が約55 nmに到達すると、FliKcとFlhBcとの安定な相互作用が可能となる相対配置が初めて実現し、輸送装置の基質特異性が切り替わる。

FliK<sub>N</sub>はFlgEと弱く相互作用する。このような弱い相互作用がフックの長さ制御に重要であるか否かを検証するため、FliK<sub>N</sub>領域内に31残基の欠失をもつ*fliKΔ* (129-159)変異株の解析を行った。この変異株では、輸送装置の基質特異性が正確なタイミングでスイッチしないため、異常に長いフックが作り出された。さらに、この欠失はFliK<sub>N</sub>-FlgD相互作用には全く影響しなかったが、FliK<sub>N</sub>-FlgE相互作用を著しく低下させた。これらの結果から、FliK<sub>N</sub>-FlgEの相互作用はFliK<sub>N</sub>と構築中のフックとの相互作用を安定化し、フックの長さ制御に寄与すると考えられる。

FlgDは232アミノ酸残基から成る。N末86残基のみでも*flgD*変異株をいくぶん相補できることから、このN末領域がフックキャップとしての機能発現に必須であると考えられる。しかしながら、C末領域の役割については不明である。そこでFlgDのC末領域(FlgDc)の作用機構を明らかにするため、FlgDcを大きく欠失した*flgD*変異株を解析した。その結果、この変異株ではFlgEの重合効率が著しく低下していた。さらに、フック長は野生株より短く、輸送装置の基質特異性スイッチが遅れることが明らかとなった。これらの結果は、上記で提案したフックの長さ制御のモデルと一致する。次に、フックの重合能が著しく低下した*flgE*変異株から偽復帰体を単離したところ、同一遺伝子外の抑制変異のうち、大部分がFlgDcに存在した。以上の結果から、FlgDcはFlgEの自己集合によるフック構築の足場として機能することが示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

細菌の運動器官であるべん毛は、細胞膜を貫通して回転モータとして働く基部体が、細胞外に長く伸びたらせん型繊維構造を高速回転して、細胞の運動を駆動する。基部体と繊維をつなぐべん毛フックは、フックキャップの直下でフック蛋白質が順次自己集合することで構築されるが、細胞内のべん毛蛋白質特異的輸送装置がその構築過程をモニターし、輸送基質特異性を切り替えることでフック蛋白質の輸送を止めて約55 nmというフックの長さを決める。申請者は、フックの長さ制御と自己構築の分子機構の解明を目的とし、これらの機構に関わる因子の遺伝学的・生化学的解析から、FliKが輸送中にフックの長さを測る柔軟なテープメジャーであること、フック蛋白質の輸送が一定時間後に遅くなるタイマー機構が存在すること、フックキャップのC末領域がフック蛋白質の重合効率に重要な役割を果たすことなどを見出し、フックの長さ制御機構の新しいモデルを提案した。

この研究成果の学術的価値を高く評価し、学位の授与に値するものと認める。