

高度好熱菌 *Thermus thermophilus* の線毛に関する研究

Type IV pili of *Thermus thermophilus*

玉腰雅忠, 尾方美沙樹, 奥田桃子, 常泉賢司, 山岸明彦

Masatada Tamakoshi, Misaki Ogata, Momoko Okuda, Kenji Tsuneizumi, Akihiko Yamagishi
(東薬大 生命科学)

(Tokyo Univ. Pharm. Life Sci., Sch. Life Sci.)

e-mail: tama@toyaku.ac.jp

型線毛は一部のグラム陰性細菌が細胞表層に持つ多機能性の繊維物質である。*Thermus thermophilus*にもその構造が見られる。*T. thermophilus*における線毛関連現象として、自然形質転換におけるDNAの取り込み、ファージ感染におけるファージの認識、寒天ゲルなどの固相表面上での滑走が知られる。これらはHB8とHB27の両代表株において見られるが、HB8の線毛はこれらに加えて、自己凝集やバイオフィーム形成にも関わることがわかっている。

細胞表層にある繊維物質として鞭毛が知られているが、鞭毛と線毛ではその起源と構造形成機構が全く異なる。鞭毛は 型分泌経路と起源を共にし、繊維の先端でフラジェリン単量体が自己組織的に重合することによって伸張する。一方、線毛は 型分泌経路に由来し、細胞膜においてエネルギー依存的に重合することによって伸張し、かつ同部位で脱重合することによって収縮もする。また両繊維物質は細胞運動に関わるが、鞭毛がその回転によって三次元的な移動を可能とするのに対し、線毛は「伸張-接着-収縮-脱離」のサイクルを繰り返すことによって尺取虫様に二次元平面上の滑走を可能とする。線毛のこのサイクルを可能とする分子レベルでの仕組みや制御はほとんどわかっていない。またこの一連の動作がDNAの取り込みやファージ認識とどのように関わることについても不明な点が多い。

本年度の発表では、(1)線毛の構造タンパク質 PiiA の遺伝子の同定、および(2)線毛の外膜貫通チャンネルを形成し、DNA との結合活性をもつタンパク質 PiiQ の FLAG タグによる検出について報告する。

(1)線毛の構造タンパク質遺伝子はHB27株で同定されていたが、その役割はDNAの取り込み能しか調べられていなかった。そこで *pyrE* 遺伝子をマーカーとして遺伝子破壊株を作製し、表現型を調べたところ、ファージ感染能と滑走能を同時に消失した。一方HB8では *pilA* 遺伝子が特定されていなかったが、幾つかの候補遺伝子のうち重合に必要と思われる領域において最も高い相同性を示す遺伝子を破壊したところ、上記の線毛関連現象全てを消失した。一般にHB8とHB27の相同タンパク質の配列相同性は高いが、線毛構造タンパク質を含めた表層タンパク質の相同性は低い。これは自然界で起きているファージとの共進化を反映していると思われる。

(2)インテグレーションベクターを用いてPiiQ外膜タンパク質のC末端にFLAGタグおよびHis8タグをタンデムに付加したタンパク質を発現する好熱菌株を作製した。形質転換株は十分な線毛関連機能を保持していた。この菌体を破砕後、不溶性画分に関して抗FLAG抗体を用いたウェスタンブロット解析を行ったところ、野生株には見られない特異的なバンドが検出された。なお、このFLAGタグを用いたタンパク質の検出方法は他の生物種と同様 *T. thermophilus* においても感度と特異性が非常に高い。ロイシン合成系酵素にFLAGタグを付加し、培地中でのアミノ酸添加による発現制御の解析例についても紹介する予定である。