

中央大学特定課題研究費 ー研究報告書ー

所属	理工学部	身分	教授
氏名	宗行 英朗		
NAME	Eiro Muneyuki		

1. 研究課題

（和文）ATP加水分解による自由エネルギーで蛋白質を輸送するべん毛輸送装置の研究

（英文）Single-molecule study on the flagellar export apparatus driven by ATP hydrolysis

2. 研究期間

2020・2021年度 ※2021年度は新型コロナウイルス感染症特例対応により1年間延長

3. 研究の概要（背景・目的・研究計画・内容および成果 和文 600字程度、英文 50word程度）

（和文）

多くの細菌は、べん毛と呼ばれる菌体外に長く伸びた螺旋状の繊維を回転させることで移動する。べん毛は約30種類のタンパク質で構成された超分子複合体であり、細菌はその構築のために決まった時期に決まったタンパク質を輸送する高度なシステムを持つ。この輸送システムの一部であるFliI/FliJ複合体はATP加水分解活性を持ち、この反応で得られる自由エネルギーがべん毛輸送の駆動力として利用されていると考えられている。本研究では、FliI/FliJ複合体の一分子観察を行い、べん毛輸送メカニズムを明らかにすることを目的とした。

まず、大腸菌にFliI/FliJ複合体を大量発現させ、その細胞抽出液からFliI/FliJ複合体の精製を試みた。ヒスチジンタグを利用したアフィニティークロマトグラフィーにより、FliIとFliJの両方のタンパク質が共溶出されることを確認した。引き続き、ゲル濾過クロマトグラフィーにより複合体の状態を解析した結果、FliI/FliJ複合体は壊れてしまっていた。精製条件を見直したところ、NaClの添加によって複合体が壊れることが明らかとなった。さらに細かく精製条件を検討し、FliI/FliJ複合体の精製方法を確立した。現在、一分子観察するためにプローブとしてポリスチレンビーズをFliI/FliJ複合体に結合させ、顕微鏡で観察する実験を進めている。

（英文）

Motile bacteria have a unique protein export system for the flagellar assembly. The FliI/FliJ complex, which is part of this export system, has ATP hydrolysis activity, and the free energy obtained from this reaction is assumed to be used as the driving force for the protein export. In this study, we aimed to clarify the mechanism of the protein export by a single molecule observation of the FliI/FliJ complex. We have developed a method for the expression and purification of the complex. At present, we are observing a single molecule using polystyrene beads under a microscope.