

マイコプラズマ・モービレの滑走運動

宮田 真人

はじめに

マイコプラズマ (*Mycoplasma*) 属は真正細菌の中のごく小さなグループであるモリクテス (*Mollicutes*) 綱に属している¹⁾。モリクテス綱は枯草菌などに代表されるフィルミクテス (*Firmicutes*) 門から、高等動植物に寄生することで進化してきたと考えられ、ヒトマイコプラズマ肺炎で知られるように多くは病原性である。ペプチドグリカン層を持たず、菌体は小さくて柔軟である。一般的にペプチドグリカンは浸透圧ストレス、捕食者、ウイルスなどから細菌の身を守っていると考えられるが、寄生時には宿主の自然免疫の標的となる。モリクテス綱は、たとえ危険にさらされても自然免疫から逃れる道を選んだと思われる。多くの細菌は、べん毛の回転や(本特集4号の曾和ら²⁾、伊藤³⁾、西山ら⁴⁾、中村⁵⁾、5号の田岡ら⁶⁾、線毛の伸縮によって動く(本特集5号の福島ら⁷⁾、中根ら⁸⁾)。しかし、これらの運動能はペプチドグリカン層を必要とするため、モリクテス綱には存在しない。代わりに彼らは、3種類のユニークな運動能を獲得している^{9,10)}。それらは、マイコプラズマ・モービレ (*Mycoplasma mobile*) (以下、モービレと略)の滑走運動、マイコプラズマ・ニューモニエ (*Mycoplasma pneumoniae*) の滑走運動、スピロプラズマ (*Spiroplasma*) 属の遊泳運動である。これらは、目で見てすぐわかるような速い動きで、それぞれ4、1、5マイクロメートル毎秒にまで達する。YouTubeで“mycoplasma gliding”や“sprioplasma swimming”などで検索すると筆者らが公開したものを含む多くのビデオが視聴できる。モービレとニューモニエの滑走運動では、菌体の細い側に形成される滑走装置により、宿主細胞やガラスなど固形物表面にはりつき、はりついたまま滑るように常に装置の側に向かって滑走する⁹⁻¹¹⁾。これら2種類の運動能には共通点もあるが、滑走装置タンパク質にまったく類似性がないため、収斂進化であると考えられる。化学走性などは観察されないが、宿主組織表面を拡散するだけでも感染の可能性は広がると思われる。筆者らは1997年にモービレの滑走運動の研究を始め、現在では3種のモリクテス綱運動能それぞれを研究している。本稿では研究のもっとも進んでいるモービレを図1の項目①から⑧、そして図2を説明しながら議論する。

菌体構造

図1① 菌体は極性を持ち、常に細い側に向かって滑走する。極性というよりも、菌体あたり必ず一つの滑走装置が形成されている、と表現した方が正しいかもしれない。①の部分に滑走に必須な表面構造が存在する。

図1② 菌体膜を界面活性剤で除去すると特徴的な構造が現れる¹²⁾。内部構造前方は、六角柱の部屋が集めた蜂の巣の様な構造になっている。蜂の巣構造からは粒子がネックレスのようにつながった構造が菌体後方に向かって伸びている。

滑走装置

図1③④ 内部構造は約10種類のタンパク質から構成され、そのうち七つはゲノム上の同じローカスにコードされている^{12,13)}。驚いたことにそれらのタンパク質のうち二つ、MMOB1660と1670(以下、遺伝子コードからMMOBを省略)は、細菌の細胞膜やミトコンドリアや葉緑体の内膜に存在し、プロトン駆動力を用いてATP合成を行うATP合成酵素とアミノ酸配列で約35%を超える相同性がある。さらに興味深いことに、1670にはN末端側に約300アミノ酸からなるユニークな配列のドメインが融合している(③の縦じま部分。相同性はこの部分を除外した数字)。④で示すようにATP合成酵素では、プロトンサブユニットaとcを通すことでサブユニットcとγを回転させ、サブユニットαとβからなる六量体に構造変化を起こすことでATPを合成する。また、逆反応によりプロトンを輸送する場合もある。モービレのタンパク質の説明に戻ると、③で示す残り五つのタンパク質にはATP合成酵素とのアミノ酸配列上の相同性はないが、コイルドコイルの位置や、膜に対するトポロジーにATP合成酵素の他のサブユニットとの類似性がある^{9,14)}。モリクテス綱ゲノムにおけるATP合成酵素の分布も興味深い¹⁴⁾。これまで三つのホモログがゲノム上に分布していることが見つかっており、Type 1、Type 2、Type 3と名づけられている。Type 1はATP合成酵素そのものである。モリクテス綱は呼吸鎖を持たず、ATPは解糖系などで合成している。そのため、Type 1はATPを用いて膜電位を維持する役割を果たしていると考えられている。Type 2は滑走装置内部構

造で、モービレタイプの滑走運動を示す種にのみ存在している。Type 3は滑走運動を示さないものを含めて多くの種に存在しているがその役割は不明で、遺伝子の構成やアミノ酸配列はType 2に近い。

図1⑤ ネックレス構造は菌体あたり約30本存在し、長さは約500ナノメートル、そして32ナノメートルの周期で粒子が並んでいる。すなわち菌体当たり約450の粒子が存在することになる。ネックレス構造は、滑走装置膜の直下に存在し、細胞膜に向かう架橋が観察される。ネックレスの粒子を単離して電子顕微鏡で観察すると、それぞれが長方形の枠で回転対称につながった二つの六量体で構成されていること、六量体はATP合成酵素の六量体部分とよく似ていること、などがわかる。

また、単離した粒子はATP加水分解活性を示した。これらのことは、内部構造が立体構造上もATP合成酵素に類似しており、その粒子こそが滑走のための力を発生するモーターであることを示している。

図1⑥ 表面にはGli123, Gli349, Gli521と名づけた3種類のタンパク質が菌体あたり約450分子ずつ存在しており、これはモーターの数とよく一致する¹⁵⁻¹⁷。それぞれの名称はkDaであらわした質量に由来する。これらのタンパク質のサイズについては、機能する際に共有結合でないを持ちこたえられない大きな張力がかかる、あるいは、菌体の外に輸送する際にひとつづきだと有利、などが理由として考えられる。分子数とサイズから、これらのタンパク質は滑走装置表面に規則正しく並

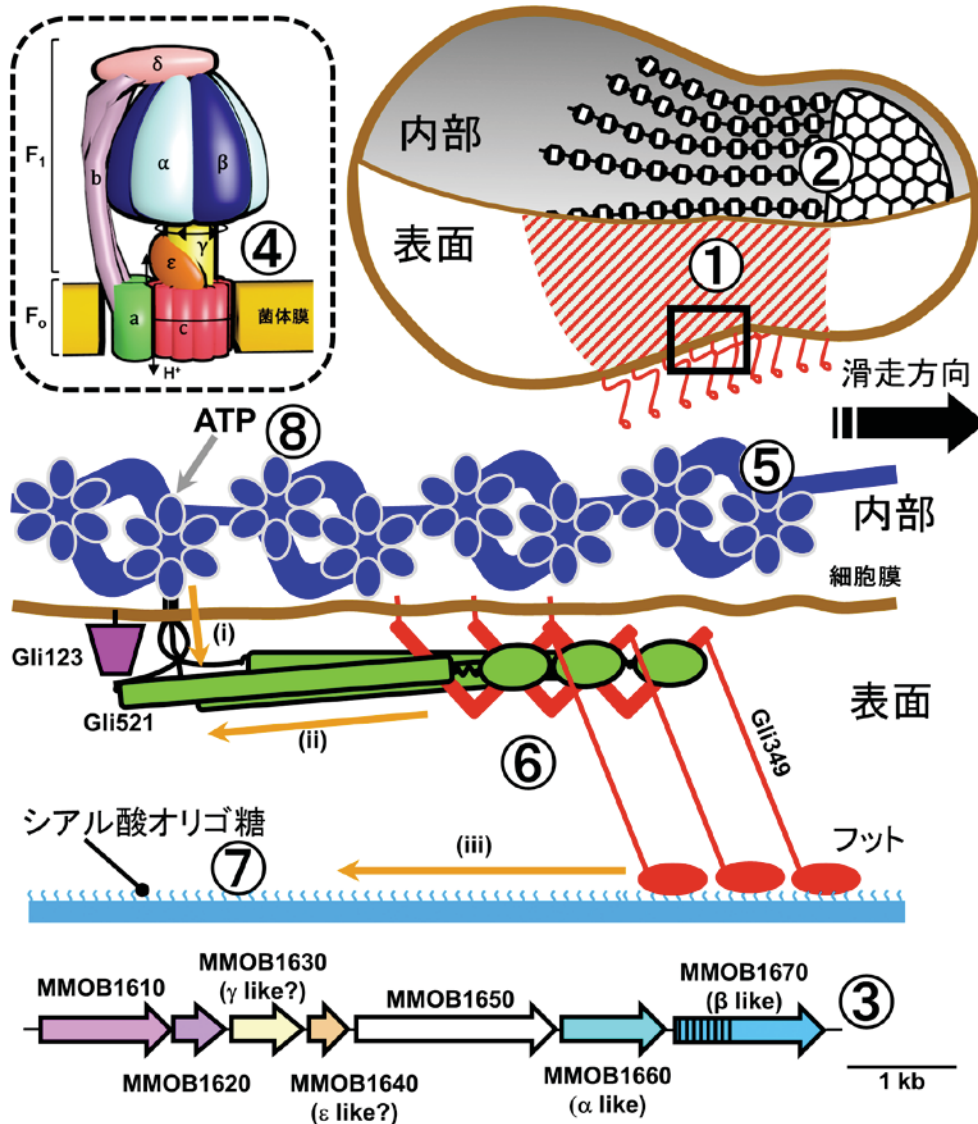


図1. モービレ滑走装置と力伝達。上段右：菌体の全体像，菌体は長さ1マイクロメートル弱，直径0.3マイクロメートルくらいである。上段左：ATP合成酵素の模式図。中段：滑走装置の拡大図，下段：滑走装置内部構造タンパク質の遺伝子群。※学会HPのPDFではカラーで表示されます。

んでいるものと思われる。三つの巨大タンパク質それぞれを単離して観察すると、⑥に示すような特徴的な形状であった。Gli349は全長が97ナノメートルの音楽の八分音符(♪)の形状で、43ナノメートルの細くきわめて柔らかいドメインを持つ^{18,19)}。Gli521は全長が121ナノメートルのクエスチョンマーク(?)のような形状で、硬いロッドが蝶番でつながった構造である²⁰⁾。モノクローナル抗体、変異体、原子間力顕微鏡などの解析から、Gli349が滑走のための“あし”、Gli521はあしに力を伝える“クランク”、Gli123は他の二つのタンパク質を固定する“マウント”の役割を果たしていることが示された。

メカニズム

図1⑦ 動物細胞表面のタンパク質や脂質の多くにはオリゴ糖が修飾されている。そしてこれらオリゴ糖の先端に存在する糖のグループが、シアル酸である。モービレ、そしてマイコプラズマ・ニューモニエも、シアル酸オリゴ糖の構造を認識して結合し、滑走する²¹⁻²³⁾。シアル酸オリゴ糖はインフルエンザウイルスなど、さまざまな感染因子の結合標的としても知られている。モービレの結合はGli349タンパク質先端のドメイン、すなわちフットと名づけた部分で起こる^{9,18,24)}。菌体が前方に滑走するためには、つかんだシアル酸オリゴ糖を離さなければならない。エネルギーが枯渇してガラス上に止まってしまった菌体を前方向、あるいは後ろ方向に引っ張ると、前方向に引っ張った時には後ろ方向の半分の力で菌体がガラスから外れることからフットの結合に方向性があることがわかる²⁵⁾。フットはGli349の43ナノメートルの柔らかいドメインの先端についているので、菌体の方向性がどのようにしてフットに伝わっているかは謎である。他の分子のフットやそれ以外のタンパク質と結合して方向性を保っているのかもしれない。

図1⑧ 滑走しているモービレに界面活性剤をかけると膜にダメージが与えられ、モービレはガラス上で停止する。さらに酵素でDNAとRNAを除去するとモービレの亡骸、“ゴースト”ができる。ゴーストはATPを添加すると数秒以内に生きていた時と同じ速度で滑走するようになるため、滑走の直接のエネルギー源がATPであることがわかる^{26,27)}。ATPを加水分解して生じた内部構造の動きが装置表面に伝わり、さらにクランクを伝わって、あしを動かすのであろう。Gli349分子は菌体あたり約450も存在するため、モービレの動きはスムーズである。しかし、遊離のシアル酸オリゴ糖を加えると、働くあしの数が減るため、菌体は左右に大きく振れるようになり、さらにはガラスから外れてしまう²²⁾。このことはスムーズな動きにはあしの協働性が必要であることを

示している。この協働性は内部のモーターのつながりによって得られているのかもしれない。遊離のシアル酸オリゴ糖を加えながら溶液の粘度をあげるか、あるいは菌体を光ピンセットで保持するなどして、滑走を続けさせると、ステップ状の滑走が観察されるようになる^{27,28)}。このステップ状の動きはすなわち、モービレのあしの一步の動きを反映していると考えられる。歩幅は約70ナノメートルで、ATPを加水分解しながら滑り運動を行うミオシンなどのモータータンパク質より10倍程度大きく、この値はあしやクランクのタンパク質の長さと同程度が一致している。逆に力は1/2-1/4程度と弱い。これらの数字は内部のモーターで生じた動きがギヤやチェーンのような構造で増幅されたのちに滑走に用いられていることを示唆している。では、内部構造でどのような動きが発生し、それがどのようにしてフットまで伝わっているのだろうか?滑走のモーターの祖先がATP合成酵素ということから、内部構造のγサブユニットに似ているタンパク質の回転がそのままに膜を横切って外部に到達し、クランクの働きにより反復運動に変換されることが想像されるが、構造は複雑であるため、答えはそう単純ではなさそうである。

ATP加水分解とのカップリング

図2 このモデルはこれまでに得られている実験結果をよく説明する^{9,29)}。(a)ではあしがシアル酸オリゴ糖をつかむことで滑走装置に張力が伝わる。張力に反応して装置はあしを引っ張り、同時にATP加水分解反応が進み(b)へ移行する。(b)では引っ張りを終えたあしが、他のあしが菌体を進めるために前方に引きずられ(c)に移行する^{15,22)}。引っ張られることでさらに加水分解サイクルは進む。新しいATP分子のモーターへの結合によりフットが構造変化を起こし^{26,27)}、シアル酸オリゴ糖を離して(d)へと移行する。ATP加水分解反応が進むことでフットはシアル酸オリゴ糖をつかめるようになり、フットは熱ゆらぎの中で適切な位置のシアル酸オリゴ糖をつかみ、次サイクルの(a)へと戻る³⁰⁾。

進化的考察

以上に解説した事実は、モービレの滑走運動が、ATP合成酵素と接着タンパク質との接触で生じてきたことを示唆している。また、冒頭で触れたスピロプラズマの遊泳運動は、バクテリアにおけるアクチンのホモログでゲノムやペプチドグリカン合成酵素の分配を行うMreBの構造変化から進化したものと考えられる。「特集によせて」で言及したように、これまでに18種類の運動能が見つかっているが、その中でも直近の起源が容易に想像

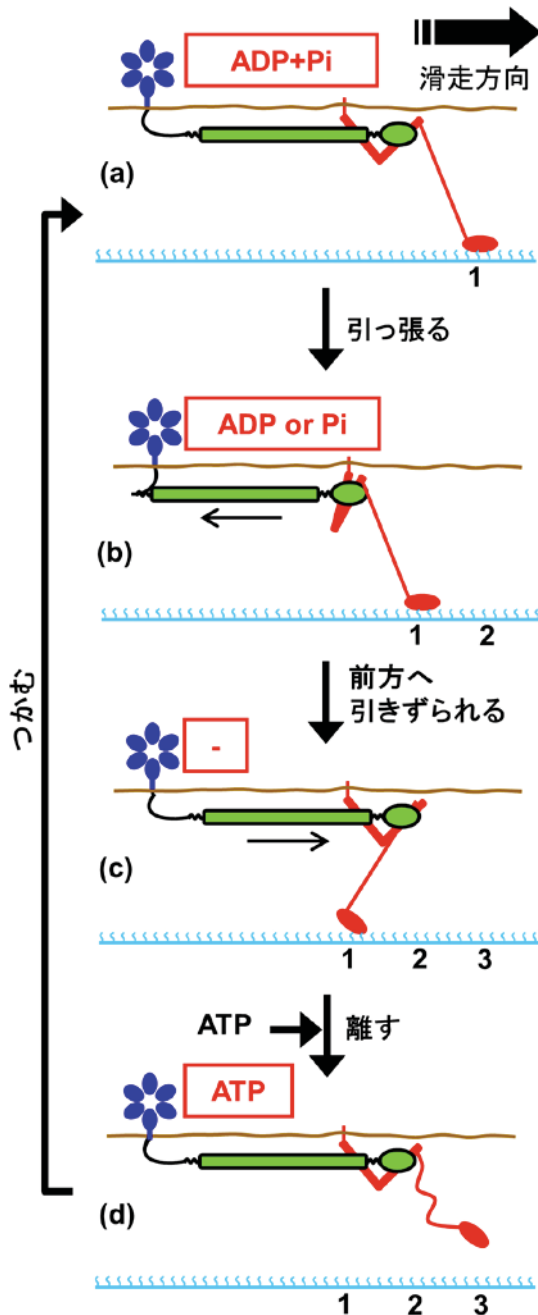


図2. 滑走サイクル. (a) から (d) の4つのステージから構成される. 四角で囲ったATPなどの文字はモーターに結合しているヌクレオチドを示す. 1, 2, 3の数字はガラスの位置を示す. ※学会HPのPDFではカラーで表示されます.

できるものは少数であることを考えると、モリクテス綱の運動能はますます興味深い。モリクテス綱の細菌のほとんどが高等動植物に寄生していることから、モリクテス綱の発生はカンブリア大爆発以降、さらにその運動能の歴史がごく浅いことが想像される。また、モリクテス綱はごく小さなグループであるにもかかわらず、三つもの独立した運動能を獲得している。このことは、

モリクテス綱がペプチドグリカン層合成を捨ててしまったことと関係がありそうである。すなわち、表層に硬いペプチドグリカン層がないので、細胞内部で行われる細胞維持活動の際に生じる力を表面に伝えるだけで運動能が獲得できるからである。実際、真核生物も多様性という観点で言えばごく小さなグループであるが、8種類もの独立した運動能を獲得している。

謝 辞

共同研究者と研究者諸兄のお陰で、有意義な研究結果と議論を展開できたことに感謝します。ここで解説した研究は、文科省科研費新学術領域「運動超分子マシナリーが織りなす調和と多様性」(24117002, 24117001)と文科省科研費、基盤研究A (17H01544)、基盤B (24390107)、大阪市立大学戦略的研究・重点研究の支援により行われました。

文 献

- 1) Hug, L. A. *et al.*: *Nat. Microbiol.*, **1**, 16048 (2016).
- 2) 曾和義幸, 笠井大司: *生物学*, **96**, 183 (2018).
- 3) 伊藤政博: *生物学*, **96**, 187 (2018).
- 4) 西山雅祥ら: *生物学*, **96**, 191 (2018).
- 5) 中村修一: *生物学*, **96**, 195 (2018).
- 6) 田岡 東, 福森義宏: *生物学*, **96**(5), (2018). (印刷中)
- 7) 福島俊一, 春田 伸: *生物学*, **96**(5), (2018). (印刷中)
- 8) 中根大介, 西坂崇之: *生物学*, **96**(5), (2018). (印刷中)
- 9) Miyata, M. *et al.*: *Curr. Opin. Microbiol.*, **29**, 15 (2016).
- 10) Miyata, M. *et al.*: *Front. Microbiol.*, **7**, 960 (2016).
- 11) Miyata, M.: *Annu. Rev. Microbiol.*, **64**, 519 (2010).
- 12) Nakane, D. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 19518 (2007).
- 13) Tulum, I. *et al.*: *J. Bacteriol.*, **196**, 1815 (2014).
- 14) Beven, L. *et al.*: *PLoS One*, **7**, e38793 (2012).
- 15) Uenoyama, A. *et al.*: *J. Bacteriol.*, **186**, 1537 (2004).
- 16) Seto, S. *et al.*: *J. Bacteriol.*, **187**, 3502 (2005).
- 17) Uenoyama, A. *et al.*: *J. Bacteriol.*, **187**, 5578 (2005).
- 18) Adan-Kubo, J. *et al.*: *J. Bacteriol.*, **188**, 2821 (2006).
- 19) Miyata, M. (Lenz, P. eds.): *Cell Motility*, 137, Springer (2007).
- 20) Nonaka, T. *et al.*: *J. Bacteriol.*, **192**, 636 (2010).
- 21) Kasai, T. *et al.*: *J. Bacteriol.*, **197**, 2952 (2015).
- 22) Kasai, T. *et al.*: *J. Bacteriol.*, **195**, 429 (2013).
- 23) Nagai, R. *et al.*: *J. Bacteriol.*, **188**, 6469 (2006).
- 24) Uenoyama, A. *et al.*: *J. Bacteriol.*, **191**, 1982 (2009).
- 25) Tanaka, A. *et al.*: *MBio*, **7**, e00455-16 (2016).
- 26) Uenoyama, A. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 12754 (2005).
- 27) Kinoshita, Y. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **111**, 8601 (2014).
- 28) Mizutani, M. *et al.*: *Biophys. J.*, **114**, 1411 (2018).
- 29) Chen, J. *et al.*: *Biophys. J.*, **97**, 2930 (2009).
- 30) Morio, H. *et al.*: *J. Bacteriol.*, **198**, 283 (2016).