

細菌の磁気感応運動のためのオルガネラ「マグネトソーム」

田岡 東^{1*}・福森 義宏²

磁性細菌の磁気感応運動

原核細胞である細菌は、特殊な細胞内構造を有することで、他の生物がもたないエネルギー生産方法や物質代謝経路を獲得したり、特殊な細胞運動を可能にしたりと彼らの生存戦略に役立っている。たとえば、二酸化炭素の固定を行うカルボキシソーム¹⁾、細胞の浮力を調節するガス小胞²⁾（本特集の田代の稿を参照³⁾）、嫌氣的アンモニア酸化を行うアナモックス細菌のアナモキシソーム⁴⁾など、多様な細胞内構造を有する細菌が知られている。近年では、これらの細胞内構造は、原核細胞オルガネラと呼ばれている⁵⁾。マグネトソームは、磁性細菌がもつ原核細胞オルガネラで、地磁気を感じ取るための磁気センサーの役割を果たす。磁性細菌は、池や川、海などの水環境の底泥内などの微好氣的（酸素濃度が1~5%程度）な環境に生育するグラム陰性細菌であり、マグネトソームを用いて細胞を地磁気の方に配向させ、べん毛を用いて地磁気に沿って遊泳する走磁性運動を行う（磁性細菌の詳細については総説^{6,7)}を参考にされたい）。地磁気は鉛直方向に傾いているため、磁性細菌は走磁性により遊泳方向を鉛直方向に固定でき、これにより生育に適した微好氣的環境を効率よく見いだすことに役立っていると考えられている（図1）。すなわち北半球では、好氣的環境にいる細胞はS極を目指し、嫌氣的環境にいる細胞はN極を目指して直線的に移動することで、効率的に微好氣的環境に移動できる。

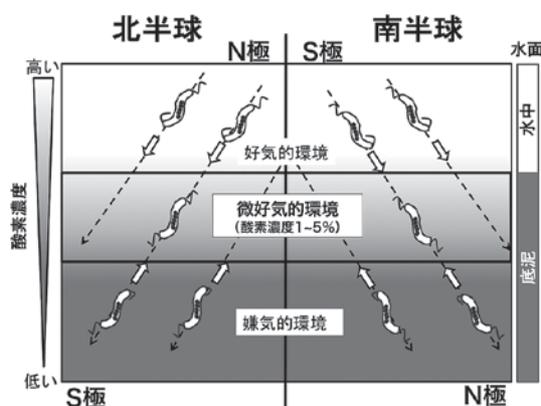


図1. 走磁性の模式図

磁性細菌の多様性

磁性細菌は、身近な水環境に遍在する細菌である。柄杓などを用いて池などの底泥を表面から1 cmほどの深さ（微好氣的環境）で採集し、採集した泥水をガラス瓶にいれ、S極を向けた磁石を瓶の側面に付けて、静置しておくことで磁石に磁性細菌が集まってくる。磁石を貼り付けてから数時間後に、磁石の付近の水をピペットで集めて顕微鏡観察するとさまざまな形態の磁性細菌が観察できる。筆者らが実際に撮影した磁性細菌の動画をインターネット（YouTube）に公開している⁸⁾。磁性細菌は系統的、形態的に多様な細菌群であり、これまでにProteobacteria門のAlpha-, Gamma-, およびDelta-proteobacteria綱、Nitrospirae門、OP3門に確認されている⁹⁾。磁性細菌に共通する特性は、細胞内に直鎖状に配置したマグネトソーム（図2）をもつことであり、マグネトソームには、大きさ50-100 nmほどの単磁区構造をもつ磁気微粒子〔磁鉄鉱（Fe₃O₄）またはグレイジャイト（Fe₃S₄）の結晶〕が含まれる。

1975年に米国の微生物研究者Blakemoreによって磁性細菌が発見されて以来¹⁰⁾、約40年間で20種以上の磁性細菌が純粋培養された。たとえば、Alpha-proteobacteria綱のらせん菌の*Magnetospirillum magnetotacticum* MS-1、*M. magneticum* AMB-1、*M. gryphiswaldense* MSR-1、球菌の*Magnetococcus marinus* MC-1、ビブリオ菌の*Magnetovibrio blakemorei* MV-1、Gamma-proteobacteria綱の桿菌BW-2株とSS-5株、Delta-proteobacteria綱のビブリオ菌*Desulfovibrio magneticus* RS-1などの磁性細菌が培養されている。このうち*M. magneticum* AMB-1¹¹⁾（図2）は、日本で単離培養されたもので、もっとも研究された磁性細菌の一つである。本細菌は、ゲノム配列が解読されることから、今日では磁性細菌研究のためのモデル生物として利用されている。

一方、多細胞性の磁性細菌*Ca. Magnetoglobus multicellularis*や数百個のマグネトソームを細胞内にもつNitrospirae門の磁性細菌など興味深い性質をもつものの、培養方法の確立されていない磁性細菌が多数知られている⁹⁾。筆者らは、Gamma-proteobacteria綱に分類

* 著者紹介 ¹⁾ 金沢大学理工研究域生命理工学系（准教授） E-mail: aztaoka@staff.kanazawa-u.ac.jp²⁾ 金沢大学理事（副学長）

される大型の磁性細菌GRS-1を石川県金沢市内の淡水池から単離した(図2)¹²⁾。GRS-1は、細胞の長さが平均で13 μm 、幅が8 μm ある、既知の磁性細菌では最大の桿菌で、細胞の体積は大腸菌の約800倍もある。数百個以上の磁鉄鉱結晶からなる長いマグネトソーム鎖とカルシウムを蓄えた顆粒を有する。細胞極で数本のべん毛を束ね、これを用いて走磁性運動を行っている(YouTube動画¹³⁾を参照)。観察が容易かつ大量の磁気微粒子を合成するGRS-1を純粋培養できれば、走磁性や磁気感应機構の解明への貢献が期待されるが現在のところ純粋培養には至っていない。

マグネトソームタンパク質

1988年Gorbyらは、マグネトソームがリン脂質膜小胞に覆われており、そこに特異的なタンパク質が局在す

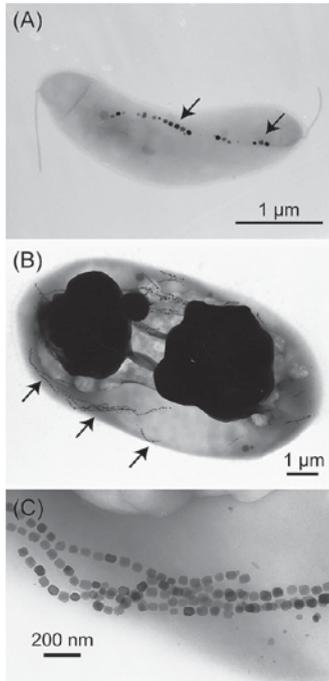


図2. 磁性細菌 *M. magneticum* AMB-1 (A), GRS-1 (B) の透過型電子顕微鏡写真。直鎖状に配列した粒子状構造がマグネトソーム(矢印)。(C) GRS-1細胞内のマグネトソーム鎖の拡大写真。

ることを明らかにした¹⁴⁾。その後、1996年に、Okudaraらが世界で初めてマグネトソームに豊富に含まれるタンパク質の一つであるMam22(現在はMamAと呼ばれる)の遺伝子配列を決定した¹⁵⁾。2004年には、Grünbergらがプロテオーム解析により30種類以上のマグネトソームタンパク質を同定し、その遺伝子を調べたところ、ゲノム中のマグネトソームアイランドと呼ばれる領域にオペロンを形成し、まとめてコードされていることを発見した(図3)¹⁶⁾。興味深いことに、マグネトソームアイランドは、ゲノム配列が解読された13種類の磁性細菌ゲノムのすべてに見つかり、少なくともProteobacteria門とNitrospirae門の磁性細菌に共通して保存されている⁹⁾。マグネトソームアイランドの起源については、遺伝子水平伝搬により獲得されたという説と共通祖先が磁性細菌であったという説が提唱されており、現在も議論が続いている^{17,18)}。2010年にMuratらは、マグネトソームアイランドに存在する遺伝子群の欠損株を網羅的に作製し、それらの表現型を解析したところ、もっとも大きなオペロンである *mamAB* オペロンがマグネトソームの形成に必須であることを示した¹⁹⁾。 *mamAB* オペロン内の9つの遺伝子 (*mamA, B, E, I, K, M, O, P, Q*) は、ゲノム配列が解読されたすべての磁性細菌に保存されている²⁰⁾。このことから、これら9つの遺伝子にコードされるタンパク質がマグネトソーム形成において重要な機能を担うと考えられる。筆者らは、これらのマグネトソームタンパク質の機能に関する研究を行っている。本稿では、このうちMamA, MamP, MamKについての研究成果を紹介する。

マグネトソームを覆うTPRタンパク質MamA

2001年、OkudaとFukumoriは、MamAのアミノ酸配列から、このタンパク質がTPR(tetratricopeptide repeat)モチーフをもつことを報告した²¹⁾。TPRモチーフとは、34アミノ酸残基からなるタンパク質-タンパク質間相互作用を担う構造モチーフであり、二つの逆向き平行の α ヘリックスで構成される。また、MamAはMamA自身と相互作用し、ホモオリゴマーを形成する可

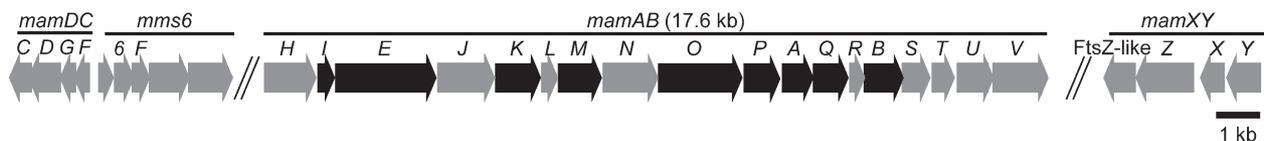


図3. *M. magneticum* AMB-1のマグネトソームアイランドの模式図。マグネトソームタンパク質は4つのオペロン (*mamDC*, *mms6*, *mamAB*, および *mamXY*) にコードされている。 *mamA, B, E, I, K, M, O, P, Q* (黒塗りの遺伝子) は既知の磁性細菌ゲノムに保存されている。

能性があることを報告した。その後2004年に、Komeiliらは*M. magneticum* AMB-1の*mamA*遺伝子欠損株を作製し、欠損株では磁鉄鉱結晶の合成能が低下することを示し、MamAがマグネトソーム形成に必要なタンパク質であると報告したが、MamAの具体的な機能はわからなかった²²⁾。

一方、2006年、筆者らはMamAの細胞内局在を免疫電子顕微鏡法により調べ、MamAがマグネトソーム膜の外側（細胞質側）に局在することを明らかにした²³⁾。さらに2010年、筆者らは原子間力顕微鏡（AFM）を用いて精製したマグネトソームを緩衝液中で観察し、その構造を観察した²⁴⁾。AFMは、先端がナノサイズの細さの探針を用いて水溶液中で試料表面を走査することで、試料の表面形状を分子レベルの分解能で可視化し、生理的環境中でタンパク質などの生体分子の構造を観察することができる。AFMでの解析の結果、マグネトソームが厚さ約7 nmの有機層で覆われていること、MamAはマグネトソームを包むこの有機層の構成分子であることをつきとめた。また、精製マグネトソーム標品と精製MamAタンパク質を用いた再構成実験の結果から、MamAがマグネトソーム膜を覆い、マグネトソームの鎖状構造の安定化に寄与するという仮説を提案した。その後2011年、ZeytuniらはMamAの立体構造をX線結晶構造解析により決定し、MamA分子上にタンパク質相互作用部位が3か所あり、これらがマグネトソーム膜の外側でのタンパク質複合体形成を担うことを示唆した²⁵⁾。2016年に、Nguyenらは、*in vitro*実験で、マグネトソーム膜タンパク質Mms6がMamAと相互作用することを示し、Mam6がMamAをマグネトソーム上に固定するタンパク質である可能性を示した²⁵⁾。

磁鉄鉱合成に関わるヘムタンパク質 MamP

磁鉄鉱 ($\text{Fe}_3\text{O}_4[\text{FeO}\cdot\text{Fe}_2\text{O}_3]$) は Fe^{2+} と Fe^{3+} の化合物であり、その合成には鉄の酸化還元反応が必要である。MamPは、ヘムc結合モチーフを二つもち、電子伝達反応を担うことが予想される。*mamP* 遺伝子欠損株では、細胞内の磁鉄鉱結晶の数が減少または小さな結晶を形成することから、MamPが磁鉄鉱形成時の酸化還元反応を担うことが示唆された¹⁹⁾。2013年、SiponenらはMamPの立体構造を決定し、MamPのヘムc結合部位は23アミノ酸残基で形成され、これまで知られるヘムタンパク質でもっとも短いこと、MamPのヘムcは二つともタンパク質の外側に露出しており、これまでに決定されたどのc型シトクロムとも異なる構造をもつ新しいタイプのシトクロムであることを明らかにした²⁷⁾。また、

彼らはMamPの鉄結合部位を同定し、*in vitro*でMamPが鉄酸化活性をもつことを示した。

筆者らは、MamPの*M. magneticum* AMB-1細胞内での機能を明らかにするため、AMB-1野生株にプラスミドからMamPを大量発現させ、磁鉄鉱合成への影響を調べた²⁸⁾。その結果、MamP大量発現株では、対数増殖期に磁鉄鉱結晶の数が野生株と比較して1.6倍に増加することがわかった。一方、静止期ではMamP大量発現の影響は見られなかった。また、MamPが対数増殖期に特異的に発現するタンパク質であることを示した。これらの結果は、MamPが磁鉄鉱の合成時期である対数増殖期に機能することを示している。さらに、ヘムcを結合できない変異型MamPを大量発現させると、*mamP*欠損株と同様に、小さな磁鉄鉱結晶（平均16 nm）を合成した。以上の結果から、MamPは、対数増殖期に発現するシトクロムであり、磁鉄鉱結晶の成長に必須のタンパク質であることがわかった。

マグネトソームを配置する細胞骨格 MamK

MamKは、真核細胞の細胞骨格タンパク質であるアクチンと相同性をもつタンパク質である。2007年、筆者らはMamKの細胞内局在を免疫染色で調べ、MamKが細胞両極にまで達する細胞長軸に沿った直線的な繊維状の構造を形成することを確認した。また、大腸菌で発現、精製した単量体MamKをATP- γ -S存在下で重合させたところ、アクチンと同様に繊維状構造に重合できることを確認した²⁹⁾。最近、LöweらがMamK繊維の立体構造を、クライオ電子顕微鏡を用いて決定し、アクチンと類似した2重らせん構造をとることを報告した³⁰⁾。一方、2006年、Komeiliらは*M. magneticum* AMB-1の細胞内構造をクライオ電子線トモグラフィにより可視化し、マグネトソームに200–250 nmの長さの繊維状構造が結合していることを報告した³¹⁾。さらに、*mamK* 遺伝子欠損株を観察すると、細胞内に繊維状の構造物は見いだされず、マグネトソームは形成されるが、それらは直鎖状に配置されず数個のマグネトソームからなるクラスターに分かれ、細胞内に分散することを見いだした。彼らはこれらの結果から、MamKタンパク質が細胞骨格を形成し、マグネトソームの直鎖状構造の足場となっていることを示唆した。

筆者らは、MamKの生理的機能を調べるため、マグネトソームの生細胞蛍光イメージング法を開発し、*M. magneticum* AMB-1細胞内のマグネトソーム動態とMamK細胞骨格の関係を調べた³²⁾。24時間にわたる長時間タイムラプス観察を行ったところ、野生株では、細

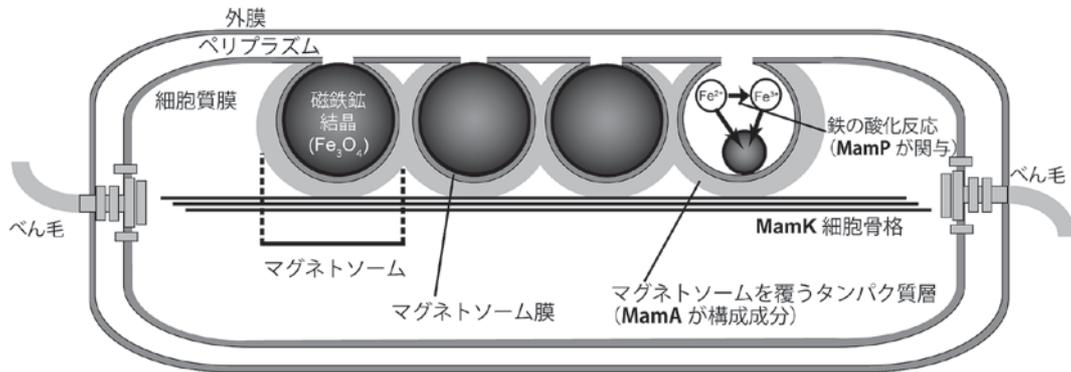


図4. マグネトソームの模式図と本稿で紹介したマグネトソームタンパク質の機能モデル

胞伸長や細胞分裂が起きても、マグネトソームは直鎖状の配置に固定された状態で安定に保持されていた。一方、*mamK*欠損株では、マグネトソームは細胞内をランダムに移動して分散するか、大きな蛍光輝点に凝集し、細胞内の偏った位置に存在していた。そこで、*mamK*欠損株でのマグネトソームの拡散定数を調べたところ、マグネトソームが単純拡散によって分散していることがわかった。本研究からMamK細胞骨格の生理的機能が明らかになった。すなわち、MamK細胞骨格は、マグネトソームを直鎖状構造に固定することで、マグネトソームの単純拡散による分散や、磁気相互作用による凝集を防ぎ、棒磁石のような構造を細胞中央に維持することで、マグネトソームの磁気センサーとしての機能を支えていることが明らかになった。

おわりに

図4は、マグネトソームの構造モデルである。これまでの研究でMamAはマグネトソームを覆うタンパク質層を形成、MamPは磁鉄鉱結晶合成のための鉄酸化反応に関わり、MamKはマグネトソームを直鎖状に固定する細胞骨格を形成し、それぞれのタンパク質がマグネトソームの磁気センサーとして機能を支えていることが明らかになった。私たちは、マグネトソームを構成するタンパク質の機能を研究することで、磁性細菌がどのようにして複雑な原核細胞オルガネラを形成し、オルガネラ内で単結晶の磁鉄鉱を合成するのか、そのメカニズムの解明に挑んでいる。磁鉄鉱結晶の化学合成プロセスでは、数百度の高温環境を用いることが主であり、常温常圧の環境で単結晶の磁鉄鉱を合成でき、その大きさや形状を制御できる磁性細菌の磁鉄鉱生合成機構は、生物学、ナノテクノロジー、材料工学、医用生体工学などの応用研究分野から注目されている。また、磁性細菌は、生物磁気感知の分子レベルのメカニズム解明を目指した

研究のための優れた材料である。同時に、いかにして微小な細菌の細胞内で高度に組織されたオルガネラが形成され、機能するのかを研究する原核細胞のオルガネラ生物学や、バイオミネラリゼーション（生物鉱物化作用）の分子機序を調べる研究材料としても有用であり、基礎と応用研究の両面から注目されている。マグネトソーム形成に関わるタンパク質の機能を明らかにすることができれば、これらの機構の一端が明らかになることが期待される。

謝 辞

本研究は科研費の新学術領域「運動超分子マシナリーが織りなす調和と多様性」[24117007]、基盤研究(B)[17H03791]、基盤研究(C)[16K07661]、若手研究(B)[25850051]のサポートのもとに遂行されました。心から感謝を申し上げます。

文 献

- 1) Bobik, T. A. *et al.*: *Mol. Microbiol.*, **98**, 193 (2015).
- 2) Pfeifer, F.: *Nat. Rev. Microbiol.*, **10**, 705 (2012).
- 3) 田代陽介: 生物工学, **96**, 253 (2018).
- 4) van Niftrik, L. A. *et al.*: *FEMS Microbiol. Lett.*, **233**, 7 (2004).
- 5) Cornejo, E. *et al.*: *Curr. Opin. Cell Biol.*, **26**, 132 (2014).
- 6) Uebe, R., Schüler, D.: *Nat. Rev. Microbiol.*, **14**, 621 (2016).
- 7) Bazylinski, D. A. and Frankel, R. B.: *Nat. Rev. Microbiol.*, **2**, 217 (2004).
- 8) YouTube: <https://youtu.be/TNgOjYmbwTA> (2017/12/23).
- 9) Lefèvre, C. T. and Bazylinski, D. A.: *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, **77**, 497 (2013).
- 10) Blakemore, R.: *Science*, **190**, 377 (1975).
- 11) Matsunaga, T. *et al.*: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **35**, 651 (1991).
- 12) Taoka, A. *et al.*: *Microbiology-SGM*, **160**, 2226 (2014).
- 13) YouTube: <https://youtu.be/kFOV2nomLJk> (2017/12/23).
- 14) Gorby, Y. A. *et al.*: *J. Bacteriol.*, **170**, 834 (1988).
- 15) Okuda, Y. *et al.*: *Gene*, **171**, 99 (1996).
- 16) Grunberg, K. *et al.*: *Appl. Environ. Microbiol.*, **70**, 1040

- (2004).
- 17) Lefèvre, C. T. *et al.*: *Environ. Microbiol.*, **15**, 2267 (2013).
- 18) Lin, W. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **114**, 2171 (2017).
- 19) Murat, D. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 5593 (2010).
- 20) Lefèvre, C. T. and Wu, L. F.: *Trends Microbiol.*, **21**, 534 (2013).
- 21) Okuda, Y. and Fukumori, Y.: *FEBS Lett.*, **91**, 169 (2001).
- 22) Komeili, A. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 3839 (2004).
- 23) Taoka, A. *et al.*: *J. Bacteriol.*, **188**, 3805 (2006).
- 24) Yamamoto, D. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 9382 (2010).
- 25) Zeytuni, N. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, E480 (2011).
- 26) Nguyen, H. V. *et al.*: *Biochem. Biophys. Rep.*, **7**, 39 (2016).
- 27) Siponen, M. I. *et al.*: *Nature*, **502**, 681 (2013).
- 28) Taoka, A. *et al.*: *FEMS Microbiol. Lett.*, **358**, 21 (2014).
- 29) Taoka, A. *et al.*: *J. Bacteriol.*, **189**, 8737 (2007).
- 30) Löwe, J. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **113**, 13396 (2016).
- 31) Komeili, A. *et al.*: *Science*, **311**, 242 (2006).
- 32) Taoka, A. *et al.*: *mBio*, **8**, e00679 (2017).