

【目的】 細菌は多様なタンパク質分泌装置 (I~IX 型) を有する。なかでも、VIII 型分泌装置はタンパク質の分泌と Curli 線毛と呼ばれる菌体外アミロイド線維の形成が共役したユニークな分泌装置である。Curli 線毛は、大腸菌やサルモネラなどの腸内細菌科細菌において“バイオフィーム”と呼ばれる菌の集合体の形成と宿主への付着に重要な役割を担う。そのため、VIII 型分泌装置の作動原理の理解は細菌感染症の予防や治療にも繋がると考えられる。しかし、Curli 線毛を構成するタンパク質が菌体内でアミロイド線維を形成しないようにどう制御されているかは不明である。本研究では、Curli 線毛構成タンパク質の細胞内における品質管理機構を明らかにすることを目指した。

【方法】 大腸菌一遺伝子欠損株ライブラリーを用いて、Curli 線毛の産生に必須な分子シャペロン・プロテアーゼ遺伝子を探索した。Curli 線毛の産生の有無は、Congo Red 含有平板培地による呈色試験、Western blotting、透過電子顕微鏡観察により評価した。試験管内タンパク質合成システム (PURE System) を用いて、タンパク質のフォールディングや凝集に与える分子シャペロンの効果を評価した。蛍光タンパク質を融合した Curli 線毛構成タンパク質 (CsgA-sfGFP) を発現させることで、大腸菌細胞内での動態を可視化した。表面プラズモン共鳴法やペプチドスクリーン法を用いて、分子間相互作用を詳細に解析した。

【結果】 Curli 線毛の産生に必須な因子として、細胞質においてタンパク質のフォールディングを助ける分子シャペロン DnaK を同定した。DnaK は Curli 線毛の産生に必須な転写因子 RpoS および CsgD のフォールディングを助けることで VIII 型分泌装置の遺伝子発現を正に制御することが分かった。また、DnaK は凝集しやすい性質を持つ CsgA のシグナル配列の N 末端数アミノ酸を認識して結合することで、細胞質での凝集体形成を抑制し、ペリプラズムへの輸送を促進することが分かった。さらに、ペリプラズムでは、複数の分子シャペロンとプロテアーゼが CsgA の質と量を制御することを見出した。以上より、VIII 型分泌装置の細胞内における品質管理機構の一端を明らかにした。さらに詳細な分子機構を明らかにすることで、バイオフィームに関連した感染症の予防・治療法の開発に繋がると期待される。

