

様 式 F - 7 - 1

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）実施状況報告書（研究実施状況報告書）（平成24年度）

1. 機関番号

1	4	6	0	3
---	---	---	---	---

 2. 研究機関名 奈良先端科学技術大学院大学

3. 研究種目名 基盤研究(C) 4. 補助事業期間 平成24年度～平成26年度

5. 課題番号

2	4	5	8	0	1	1	2
---	---	---	---	---	---	---	---

6. 研究課題 細菌の細胞分裂装置の制御メカニズムの解明

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
3 0 3 5 9 8 7 2	イシカワ シュウ 石川 周	バイオサイエンス研究科	助教

8. 研究分担者

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名

9. 研究実績の概要

細菌の細胞分裂はFtsZがリング構造を形成し、分裂が進行する。しかし、細胞分裂装置として働くためにはFtsZを細胞膜に繋ぎとめる蛋白質が必須である。枯草菌では、FtsA、SepF、EzrAがその役割を担っていると考えられているが、どの因子がどの程度寄与しているかは不明である。本年度では、「FtsA、SepF、EzrAで細胞分裂装置として働くために最低限必要な因子の特定と評価」、「EzrAはFtsAに直接結合し、Z-ring形成を制御するというモデルの検証」を行った。

申請者らは「EzrAはFtsAに直接結合しZ-ring形成を制御する」というモデルを提唱してきたが、これが正しければ、これまで破壊できないとされてきたsepF-ezrAの2重破壊や、ftsA-sepF-ezrAの3重破壊株は、FtsAを過剰生産すると可能である。今回、この仮説を立証することができた。

pull-down assayによりEzrA複合体を精製するとFtsZ、FtsA、SepFが共精製される。これまで、ftsA破壊株ではFtsZが共精製されないことを発見し、EzrA-FtsZ間の結合はFtsAを介したものであるという仮説を立てるきっかけとなった。しかし、FtsZが共精製できないのは、ftsA破壊株では細胞分裂が強く阻害されることが原因である可能性も考えられる。そこで、SepFを過剰発現させ、Z-ring形成効率を野生株レベルまで回復させたうえでEzrAの複合体解析を行った。その結果、この条件でも同様にFtsZは共精製されなかった。EzrAの細胞内局在に関して、仮説がただしければFtsAが存在しない場合にはEzrAはZ-ringに局在できないはずである。そこで免疫蛍光顕微鏡により検証した。その結果、FtsAが存在しないとEzrAはFtsZが局在する細胞分裂面に局在できないことを証明できた。

10. キーワード

(1) 細胞分裂	(2) 枯草菌	(3) SepF	(4) EzrA
(5) FtsA	(6) FtsZ	(7)	(8)

11. 現在までの達成度

(区分)(1) 当初の計画以上に進展している。

(理由)

24年度の計画が早くに結論が出たので、25年度に計画していた「FtsZ-SepF間の相互作用を失う変異を酵母2ハイブリッド解析(Y2H)によりスクリーニングする」を行った。その結果、FtsZと相互作用を失う変異型SepFは、すべて保存されたC末端領域にみられた。また、SepFをドメインに分けたY2Hの結果から、C末端はFtsZとの相互作用領域であるとともに、SepFと相互作用する領域であることを明らかにした。また、イギリス・ニューキャッスル大学のLeendert W. Hamoenらと協力し、SepFの立体構造、細胞膜への結合能も詳細に解析した。これらのデータに基づき、SepFがFtsZを膜へアンカーするモデルを提唱することができた。

12. 今後の研究の推進方策 等

(今後の推進方策)

SepFに関しては、イギリス・ニューキャッスル大学のLeendert W. Hamoenらと共著の論文を投稿予定である。EzrAの研究に関しては、当初の予定通りFtsA-EzrA間の相互作用を失う変異を酵母2ハイブリッド解析により特定、その変異を枯草菌に導入し、表現型、蛋白質複合体の解析、蛋白質の細胞内局在を観察し、どの領域・アミノ酸が相互作用に関わっているかを決定する。さらにEzrAの研究に関しては、FtsZと直接相互作用するという論文が多数発表されている。この内容をひるがえすためには、過去の実験を検証する必要があるので検証実験を追加する。

(次年度の研究費の使用計画)

予定していた海外の学会参加へ参加せず、論文の投稿も間に合わなかったのが主な理由である。次年度では、研究成果を発表するために、論文を少なくとも二報、海外への学会参加も予定している。

13. 研究発表(平成24年度の研究成果)

〔雑誌論文〕計(0)件 うち査読付論文 計(0)件

著者名	論文標題			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)				

〔学会発表〕計(0)件 うち招待講演 計(0)件

発表者名	発表標題	
学会等名	発表年月日	発表場所

〔図書〕計(0)件

著者名	出版社		
書名	発行年	総ページ数	

14. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

〔出願〕計(0)件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	出願年月日	国内・外国の別

(取得) 計(0)件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	取得年月日	国内・外国の別
				出願年月日	

15.備考

--