

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 2 5 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 2 4 年度 ~ 平成 2 6 年度

5. 課題番号

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

6. 研究課題名 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が細胞中央でZ-ringを形成し、収縮することにより細胞膜を内側に引っ張り込むことによりおこる。FtsZには細胞膜に結合する領域が無い場合、FtsZと細胞膜を繋ぐ蛋白質が必要である。大腸菌では、FtsAがその役割を果たすことが知られている。細胞分裂は細胞の増殖に必須であるために、大腸菌ではFtsZ欠損に加えて、FtsA欠損も致死となる。一方、枯草菌ではFtsAは必須ではない。我々はこれまで、枯草菌にはFtsAの機能的ホモログのSepFが存在するため、両方を欠損させてはじめて致死となることを明らかにしてきた。

本年度の研究では、SepFの機能の分子メカニズムを解明することを目的とした。酵母2ハイブリッド解析によりFtsZ、およびSepF自身との相互作用領域を決定した結果、いずれもC末端ドメインであることがわかった。さらにJan Lowe博士とLeendert Hamoen博士らとの共同研究の結果から、C末端ドメインだけでもin vitroで巨大なチューブ状の構造体を形成すること、さらにC末端ドメインの結晶構造解析の結果からは、C末端ドメインはdimerを基本単位としてポリマー化することがわかった。さらに、全長のSepFはリボソームへ結合することができるが、C末端ドメインだけではリボソームに結合できないこと、SepFのC末端ドメインだけではFtsA欠損との合成致死を相補できないが、C末端ドメインに別の蛋白質の膜結合領域を付加すると、合成致死性を相補できるということがわかり、N末端領域が膜結合領域であることも証明できた。このように、SepFがFtsZを細胞膜にアンカーするメカニズムを解明することができ、その論文は2013年Proceedings of the National Academy of Sciencesに掲載された。

10. キーワード

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

11. 現在までの達成度

(区分)(2) おおむね順調に進展している。

(理由)

SepFの分子メカニズムを解明することができ、成果も論文として発表することができた。また、EzrAにかんしても当初計画していた以下の研究を実施した。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した。「FtsZ-GFP発現株は温度感受性となるが、ezrA欠損により相補できる。この理由は、EzrAが直接FtsZをと相互作用し、ポリマー化を阻害するためである」という定説がある。我々は、EzrAはFtsZと直接相互作用するのではなく、FtsAを介してFtsZを制御しているという結果を得ている。我々の結果を証明するためには、この定説の出発点となった温度感受性となるFtsZ-GFP発現株における現象を説明することが重要である。そこで、FtsZ-GFPにHis-tagを付加して、in vivo複合体解析を行うのに必要な全ての株を準備した。この様に計画通り、おおむね順調に進展している。

12. 今後の研究の推進方策 等

(今後の推進方策)

我々は、EzrAがFtsZと直接相互作用するのではなく、FtsAと直接相互作用することを、in vivoの複合体解析、酵母2ハイブリッド解析、免疫顕微鏡の結果から示してきた。EzrAがFtsZに直接結合しFtsZのポリマー化を阻害するという定説を覆すためには、その出発点となったFtsZ-GFP発現株が高温で細胞分裂阻害が起こる原因を説明する必要がある。そこで、FtsZ-GFP-His発現株を使用し、細胞分裂複合体を詳細に調べる。我々の予想では、FtsZ-GFPが高温で細胞分裂阻害を起こす理由は、FtsZ-GFPはFtsAとSepFの結合部位であるFtsZのC末端にGFPを融合したため、FtsAとSepFとの相互作用が弱くなっており、高温で特に強い細胞分裂阻害がみられるためであると考えている。一方、EzrAを欠損させた場合には、FtsAとFtsZの相互作用の強くなるために相補されるという仮説をたてている。これらのデータと、さらにFtsAと相互作用しなくなる変異型EzrAの詳細な解析を通じて、細胞分裂におけるEzrAの役割を明らかにする。

(次年度使用額が生じた理由と使用計画)

(理由)

本年度の研究は、SepFの研究を完成させるための実験、およびSepFの論文の執筆が中心に行った。そのために、EzrAの研究に必要な消耗品、論文作成のための費用の分を使用しなかった。ただし、この予算は、次年度にEzrAの研究を遂行するのに必要な経費である。

(使用計画)

次年度使用額は、前年度に計画していたEzrAの研究の完成、論文の執筆の費用にあてる。また、SepF、EzrAの両方を包括した研究にも取り組み、その成果を学会・論文等で発表するために使用する。

13. 研究発表(平成25年度の研究成果)

(雑誌論文) 計(1)件 うち査読付論文 計(1)件

著者名		論文標題			
Duman R, Ishikawa S, Celik I, Strahl H, Ogasawara N, Troc P, Löwe J, Hamoen LW		Structural and genetic analyses reveal the protein SepF as a new membrane anchor for the Z ring			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁
Proceedings of the National Academy of Sciences	有	110	2	013	E4601-E4610
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
DOI 10.1073/pnas.1313978110					

(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

--