

## 大腸菌細胞表層におけるリポ蛋白質ネットワークの解明

●松山 伸一 ◆徳田 元

東京大学分子細胞生物研究科

### 研究の目的と進め方

細菌の細胞表層には脂質修飾されたりポ蛋白質が存在しており、形態形成、細胞分裂、物質輸送、情報伝達など重要な細胞機能に関与している。リポ蛋白質遺伝子はゲノム全体の2～8%を占める主要遺伝子群を構成しており、大腸菌では102種のリポ蛋白質遺伝子の存在が示唆されている。しかし、機能解析が行われているリポ蛋白質は20種にも満たず、多くは未だ解析されていない。本研究課題の目的は、細菌細胞の生命現象の総合的理解の一環として、大腸菌の全リポ蛋白質遺伝子の網羅的機能解析を通して、個々のリポ蛋白質の機能とそれらが形成する細胞表層における機能的ネットワークを明らかにすることにある。

### 2001年度の研究の当初計画

#### (1) 欠失変異株の解析

平成12年度に取得したりポ蛋白質遺伝子欠失変異株のより詳細な解析を行う。また、11組の相同的なりポ蛋白質遺伝子の二重変異株を作成して解析する。これらの解析から全リポ蛋白質の機能を明らかにする。

#### (2) 相互作用の解析

His-tagを付けたリポ蛋白質を発現する株の細胞表層蛋白質をニッケルカラムで処理し、細胞表層複合体の単離と構成因子の同定を行う。また、欠失変異株と野生株との細胞表層蛋白質の比較から増減する蛋白質を同定することにより、欠失したりポ蛋白質の機能や相互作用に関する情報を得る。開裂可能な化学架橋剤を用いて生細胞の化学架橋も行う。これらの解析から得られる成果をもとに相互作用ネットワークを解明する。

### 2001年度の成果

102の欠失変異株を詳細に解析した結果、高温や低温でフィラメントになる変異株などが新たに見つかり、

機能解析の手がかりが得られた。ニッケルカラムを用いてリポ蛋白質と相互作用する蛋白質を多数同定し、ネットワーク構築の基礎を築いた。

### 国内外での成果の位置づけ

細菌細胞表層蛋白質の解析は容易ではなく、実際に行っているグループは少ない。本課題の研究は私たちの独壇場であり、その成果は注目されている。

### 達成できなかったこと、予想外の困難、その理由

二重変異株を取得して解析したが、表現型が得られなかった。過剰発現できないリポ蛋白質が多数あり、相互作用の解析が中途半端な状態にある。

### 今後の課題

表現型が現れない約60株の欠失変異株の機能解析と、過剰発現できないリポ蛋白質の相互作用解析が今後の重要課題である。

### 成果公表リスト

1. Tanaka, T., S. Matsuyama, and H. Tokuda. (2001) Deletion of *lolB* encoding an outer membrane lipoprotein is lethal for *Escherichia coli* and causes the accumulation of lipoprotein localization intermediates in the periplasm. *J. Bacteriol.* 183 : 6538-6542.
2. Miyamoto, A., S. Matsuyama, and H. Tokuda. (2001) Mutant of *LolA*, a lipoprotein-specific molecular chaperone of *Escherichia coli*, defective in the transfer of lipoproteins to *LolB*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 287 : 1125-1128.
3. Terada M, T. Kuroda, S. Matsuyama, and H. Tokuda. (2001) Lipoprotein-sorting signals evaluated as the *LolA*-dependent release of lipoproteins from the cytoplasmic membrane of *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* 276 : 47690-47694.
4. Narita, S., K. Tanaka, S. Matsuyama and H. Tokuda. (2002) Disruption of *lolCDE* encoding an ATP-binding cassette transporter is lethal for *Escherichia coli* and prevents the release of lipoproteins from the inner membrane. *J. Bacteriol.* 184 : 1417-1422.