

平成 22 年 5 月 25 日現在

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2006～2008

課題番号：18209013

研究課題名（和文） マイコプラズマ滑走運動の分子メカニズム

研究課題名（英文） Molecular mechanism of *Mycoplasma* gliding

研究代表者

宮田 真人（MIYATA MAKOTO）

大阪市立大学・大学院理学研究科・教授

研究者番号：50209912

研究成果の概要：

ヒト肺炎の原因菌などとして知られるマイコプラズマは菌体の片側に膜突起を形成し、固形物表面を滑るように動く、“滑走運動”を行う。本研究計画では、この現象のメカニズムに迫るため、装置とそれをささえる構造、そしてそれらの構成部品を単離し、それらの構造を明らかにした。また、マイコプラズマが滑走時に宿主細胞上のどんな構造をつかんでいるかをつきとめ、メカニズムを説明するモデルの提案を行った。

交付額

（金額単位：円）

|         | 直接経費       | 間接経費       | 合計         |
|---------|------------|------------|------------|
| 2006 年度 | 13,800,000 | 4,140,000  | 17,940,000 |
| 2007 年度 | 14,900,000 | 4,470,000  | 19,370,000 |
| 2008 年度 | 8,700,000  | 2,610,000  | 11,310,000 |
| 年度      |            |            |            |
| 年度      |            |            |            |
| 総計      | 37,400,000 | 11,220,000 | 48,620,000 |

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・細菌学（含真菌学）

キーワード：マイコプラズマ、滑走運動、ATP アーゼ、結合対象、シアル酸、分子構造、数学モデル、細胞骨格構造

## 1. 研究開始当初の背景

ヒト肺炎の原因菌などとして知られるマイコプラズマは菌体の片側に膜突起を形成し、突起の側に向かって宿主細胞などの固形物表面を滑るように動く、“滑走運動”を行う。この滑走運動はマイコプラズマの寄生性と病原性に必須であるが、ほとんど研究されたことはなかった。本研究の開始までに研究代表者らは、この現象に直接関与するタンパク質と遺伝子をつきとめ、この現象がこれまで調べられてきたどのような生体運動とも根本的に異なる現象であることを明らかにしてきた。

## 2. 研究の目的

メカニズムに迫るために、以下の情報を得るべく研究を行った。(1) ATP を加水分解するタンパク質の同定。(2) 滑走に直接かかわるタンパク質の分子形状。(3) 滑走の装置をささえるマイコプラズマの細胞骨格構造。(4) “あし”の結合対象と結合の性質。(5) 物理法則と矛盾のないモデル。

## 3. 研究の方法

前欄にあげた各項目について、もっとも速く滑走する種 *Mycoplasma mobile* を主な材料として、以下の方法で研究を行った。(1) こ

れまでに滑走に直接関与することを明らかにしたタンパク質と、ゲノム上でそれらと同じ位置にコードされているタンパク質について、ATP加水分解活性の有無とその性質を調べた。(2) 滑走に直接関与する3つのタンパク質を生化学的手法で単離し、それらの構造を部分加水分解と、電子顕微鏡で調べた。(3) 界面活性剤を用いて菌体から細胞膜と細胞質を除去し、特徴のある高次構造を電子顕微鏡下で探した。(4) 菌体および“あし”タンパク質の結合を阻害する、試薬や固形物表面処理方法を探し、さらに、決定された結合対象と“あし”のタンパク質の結合を力学的に解析した。(5) これまでに得られた情報からメカニズムのモデルを構築し、適応可能な物理法則と予測される性質を設定し、これまでに得ている、力学測定データのシミュレーションを行った。

#### 4. 研究成果

(1) 新規タンパク質、P42が、滑走メカニズムの中でATPを加水分解して最初の動きを作っていることを明らかにした。(2) “あし”の役割を持つタンパク質、Gli349と“ギア”の役割を持つタンパク質、Gli521、さらにはヒト肺炎のマイコプラズマ *Mycoplasma pneumoniae* の“あし”の役割を持つタンパク質、P1 adhesinの分子形状を、ドメイン構造を含めて明らかにした。(3) 滑走装置を菌体内部からささえると考えられる細胞骨格構造を発見し、その構成タンパク質を明らかにした。さらに、同じ手法を用いて、トリの病原菌で、ヒトの肺炎菌と近縁な *Mycoplasma gallisepticum* の細胞骨格構造を発見し、その構成タンパク質を明らかにした。(4) 滑走の直接の結合対象が Sialyllactose であること、“あし”タンパク質がこの構造つかむこと、を明らかにした。(5) これまでの実験結果と、一般的な物理法則の全てに矛盾しないモデルを提案することに成功した。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 27 件)

1. Miyata M, Unique centipede mechanism of *Mycoplasma* gliding. Annual Review of Microbiology, 64, 印刷中, 2010, 査読有
2. Lesoil C, Nonaka T, Sekiguchi H, Osada T, Miyata M, Afrin R and Ikai A, Molecular shape and binding force of *Mycoplasma mobile*'s leg protein Gli349 revealed by an

- AFM study. Biochemical and Biophysical Research Communications, 391, 1312-1317, 2010, 査読有
3. Nonaka T, Adan-Kubo J and Miyata M, Triskelion structure of Gli521 protein involved in gliding mechanism of *Mycoplasma mobile*. Journal of Bacteriology, 192, 636-642, 2010, 査読有
4. 宮田真人, 病原細菌, マイコプラズマのユニークな滑走運動, 化学と生物, 48, 176-181, 2010, 査読無
5. 宮田真人 中根大介, 病原細菌, マイコプラズマのユニークな滑走運動を支える細胞骨格, 生物の科学 遺伝, 2010.3月号, 47-51, 2010, 査読無
6. Chen J, Neu J, Miyata M and Oster G, Motor-substrate interactions in *Mycoplasma*. Motility explains non-Arrhenius temperature dependence. Biophysical Journal, 97, 2930-2938, 2009, 査読有
7. Uenoyama A, Seto S, Nakane D, and Miyata M, Regions on Gli349 and Gli521 protein molecules directly involved in movements of *Mycoplasma mobile* gliding machinery suggested by inhibitory antibodies and mutants. Journal of Bacteriology, 191, 1982-1985, 2009, 査読有
8. Nakane D and Miyata M, Cytoskeletal asymmetrical-dumbbell structure of a gliding mycoplasma, *Mycoplasma gallisepticum*, revealed by negative-staining electron microscopy. Journal of Bacteriology, 191, 3256-3264, 2009, 査読有
9. 宮田真人, マイコプラズマ滑走運動の分子メカニズム, IFO RESEARCH COMMUNICATIONS, 23, 131-138, 2009, 査読無
10. 宮田真人, 実験室の厄介者、マイコプラズマのひみつ - モータータンパク質も細胞骨格も使わない細胞運動 -, 生化学, 81, 31-34, 2009, 査読無
11. 宮田真人 中根大介, *Mycoplasma pneumoniae* の滑走運動, 生体の科学, 60, 90-102, 2009, 査読無
12. 宮田真人, うごめくバイ菌, マイコプラズマのユニークな運動メカニズム, 現代化学, 5月, 27-32, 2008, 査読無
13. Miyata M, Centipede and inchworm models to explain *Mycoplasma* gliding, Trends in Microbiology, 16, 6-12, 2007, 査読有
14. Miyata M, Molecular mechanism of *Mycoplasma* gliding - a novel cell motility system, Cell Motility (Lenz, P., ed). Springer, 137-175, 2007, 査読有

15. Nakane D and Miyata M, Cytoskeletal "Jellyfish" structure of Mycoplasma mobile, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 104, 19518-19523, 2007, 査読有
  16. 宮田真人, マイコプラズマ滑走運動の分子メカニズム - ユニークな生体運動 -, 日本細菌学会雑誌, 62, 347-661, 2007, 査読無
  17. 宮田真人, 表面を・つかんではなす・マイコプラズマ, 表面科学, 28, 198-203, 2007, 査読無
  18. Miyata M and Ogaki H Cytoskeleton of mollicutes. Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology, 11, 256-264, 2006, 査読有
  19. Ohtani N and Miyata M, Identification of a novel nucleoside triphosphatase from *Mycoplasma mobile*: a prime candidate for motor of gliding motility, Biochemical Journal, 403, 71-77, 2007, 査読有
  20. Hiratsuka Y, Miyata M, Tada T, and Uyeda TQ, A microrotary motor powered by bacteria. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 103, 13618-13623, 2006, 査読有
  21. Nagai R and Miyata M Gliding motility of *Mycoplasma mobile* can occur by repeated binding to N-acetylneuraminylactose (sialyllactose) fixed on solid surfaces. Journal of Bacteriology, 188, 6469-6475, 2006, 査読有
  22. Adan-Kubo J, Uenoyama A, Arata T, Miyata M, Morphology of isolated Gli349, a leg protein responsible for glass binding of *Mycoplasma mobile* gliding revealed by rotary-shadowing electron microscopy. Journal of Bacteriology, 188, 2821-2828, 2006, 査読有
  23. 宮田真人, 患者といっしょに歩き回るマイコプラズマ, 化学療法の領域, 23, 267-272, 2006, 査読無
  24. 宮田真人, "walking pneumonia"の病原菌であるマイコプラズマは患者と同様に歩きまわる, 感染・炎症・免疫, 36, 72-73, 2006, 査読無
  25. 宮田真人, 電顕に期待するもの, 細胞工学, 25, 1186-1187, 2006, 査読無
  26. 宮田真人, マイコプラズマの滑走運動-ここまでわかった未知の構造と生体運動メカニズム, 顕微鏡, 41, 39-44, 2006, 査読無
  27. 宮田真人, マイコプラズマの細胞運動メカニズム ATP で滑走するバクテリア, BioNics.3, 52-58, 2006, 査読有
- 〔学会発表〕(計 101 件中 35 件)
1. 宮田真人, Gliding motility of human pathogen, *Mycoplasma pneumoniae*, 第 83 回日本細菌学会総会, 2010.3.29, 横浜市
  2. 宮田真人, 最小生物, マイコプラズマのユニークな滑走運動, 日本物理学会 第 65 回年次大会, 2010.3.21. 岡山市
  3. 中根大介, 西坂崇之, 宮田真人, マイコプラズマのステップ, 2010 年生体運動研究合同班会議, 2010.1.11. 東京都
  4. 宮田真人, 病原細菌, 'マイコプラズマ'の全くユニークな滑走運動メカニズム, 第 55 回生命機能研究科研究交流会, 2009.12.18. 吹田市
  5. 宮田真人, *Mycoplasma* gliding -a novel mechanism of bacterial surface motility-, 第 4 回人工筋肉コンファレンス-生体模倣, 人工筋肉とナノバイオに関する第 5 回国際会議, 2009.11.26. 豊中市
  6. 宮田真人, 病原細菌, マイコプラズマの滑走運動 - 構造とメカニズム -, 日本農芸化学会 2009 年度大会, 2009.3.29. 福岡市
  7. 宮田真人, マイコプラズマ滑走運動の分子メカニズム, 第 82 回日本細菌学会総会, 2009.3.12. 名古屋市
  8. Nonaka T, Adan-Kubo J and Miyata M, Molecular shapes of Gli123 and Gli521 involved in gliding motility of *Mycoplasma mobile*, BLAST X, 2009.1.19. Cuernavaca
  9. Nakane D and Miyata M, Tethered *Mycoplasma*, BLAST X, 2009.1.20. Cuernavaca
  10. 宮田真人, 病原細菌, マイコプラズマの滑走運動 - 構造とメカニズム -, 認定 NPO 法人 第 5 回可視技術ワークショップ「バイオイメージングテクノロジーを用いた微生物多様性へのアプローチ」, 2008.11.8. 東京都
  11. Nakane D, Kenri T and Miyata M, High-resolution quick imaging of Cytoskeletal architecture of *Mycoplasma pneumoniae* and *Mycoplasma gallisepticum* using conventional electron Microscopy, 17<sup>th</sup> IOM Congress, 2008.7.11. Tianjin
  12. H. N. Wu and Miyata M, Surviving strategies of *Mycoplasma mobile* by antigenic of Mvsp1, 17<sup>th</sup> IOM Congress, 2008.7.11. Tianjin
  13. Nonaka T, Adan-Kubo J and Miyata M, Molecular shapes of Gli521 and Gli123 involved in gliding motility of *Mycoplasma mobile*, 17<sup>th</sup> IOM Congress, 2008.7.11. Tianjin
  14. Nakane D and Miyata M, Jellyfish structure of *Mycoplasma mobile*, 17<sup>th</sup> IOM Congress, 2008.7.11. Tianjin

15. Miyata M, The Cytoskeletal structure of *Mycoplasma* gliding, 108<sup>th</sup> General Meeting of American Society for Microbiology, 2009.6.4. Boston
  16. Nakane D and Miyata M, Cytoskeletal structure of a gliding Mycoplasma, *Mycoplasma gallisepticum*, revealed by negative-staining electron microscopy and image averaging, 108<sup>th</sup> General Meeting of American Society for Microbiology, 2009.6.2, Boston
  17. 宮田真人, マイコプラズマ滑走装置とそれを支える構造, 日本顕微鏡学会 第64回学術講演会, 2008.5.21. 京都市
  18. 宮田真人, マイコプラズマ滑走運動のメカニズム, 第17回北里研究所学会賞受賞者特別講演会, 2008.1.29. 東京都
  19. Miyata M, *Mycoplasma* gliding; a novel mechanism of biomotility, 第30回日本分子生物学会年会 第60回日本生化学会大会 合同大会, 2007.12.11 横浜市
  20. 宮田真人, マイコプラズマ滑走運動, 第45回日本放線菌学会学術講演会, 2007.10.5. 東京都
  21. Miyata M, *Mycoplasma* gliding-a novel mechanism of biological surface motility, The International Conference on Science of Friction, 2007.9.10. Irago
  22. Miyata M, *Mycoplasma* glide with a novel mechanism, The 7<sup>th</sup> Awaji International Forum on Infection and Immunity, 2007.8.27. Awaji
  23. Miyata M, *Mycoplasma* gliding-a novel mechanism of cell motility, 第40回日本発微生物学会 第59回日本細胞生物学会合同大会, 2007.5.30. 福岡市
  24. 宮田真人, マイコプラズマの滑走運動-全く新しい生体運動メカニズム-, 第44回レプトスピラシンポジウム, 2007.3.25. 大阪市
  25. Nakane D and Miyata M, Jellyfish structure of gliding bacterium, *Mycoplasma mobile*, BLAST IX, 2007.1.15. Lauphlin
  26. Nakane D, Adan-Kubo J, Kenri T and Miyata M, Isolation and characterization of P1 adhesin, leg protein of gliding motility of *Mycoplasma pneumoniae*, BLAST IX, 2007.1.16 Lauphlin
  27. 中根大介, 宮田真人, マイコプラズマの細胞骨格はくらげ構造か? 2007年生体運動研究合同班会議, 2007.1.9. 金沢市
  28. 宮田真人, マイコプラズマの滑走運動-あらたな生体運動のメカニズム-, 第21回生体機能関連化学シンポジウム「若手フォーラム」, 2006.9.27. 京都市
  29. Miyata M, Uenoyama A, Adan-Kubo J, Nagai R and Ohtani N, Molecular mechanism of *Mycoplasma* gliding, 16<sup>th</sup> IOM Congress, 2006.7.10. Cambridge
  30. Nakane D, Adan-Kubo J, Kenri T and Miyata M, Isolation and characterization of P1 adhesin involved in gliding motility of *Mycoplasma pneumoniae*, 16<sup>th</sup> IOM Congress, 2006.7.13. Cambridge
  31. Uenoyama A and Miyata M, Gliding ghost of *Mycoplasma mobile*, 16<sup>th</sup> IOM Congress, 2006.7.13. Cambridge
  32. Kenri T, Seto S, Horino A, Arakawa Y, Sasaki T and Miyata M, Mapping of localization sites of cytoadherence-rated and cytoskeletal proteins of *Mycoplasma pneumoniae* by fluorescent protein tapping, 16<sup>th</sup> IOM Congress, 2006.7.14. Cambridge
  33. Adan-Kubo J and Miyata M, Morphology of isolated Mvsp1, a putative antigenic variation protein of *Mycoplasma mobile*, 16<sup>th</sup> IOM Congress, 2006.7.14. Cambridge
  34. 宮田真人, 表面タンパク質の形態から考える滑走運動メカニズムとその進化的由来, 第33回日本マイコプラズマ学会学術集会, 2006.6.2. 東京都
  35. 宮田真人, あたらしい生体運動メカニズム-マイコプラズマの滑走運動-, 第54回日本化学療法学会総会, 2006.5.19. 京都市
6. 研究組織
- (1)研究代表者  
宮田 真人 (MIYATA MAKOTO)  
大阪市立大学・大学院理学研究科・教授  
研究者番号：50209912
  - (2)研究分担者  
なし
  - (3)連携研究者  
なし