細菌べん毛の多型変換

名古屋大学理学部 神谷 律*
分子生物学研究施設

細菌のべん毛線維は一種類の球状蛋白質（フラジェリン）の重合体であるが、同じ筒状重合体の TMV 外筒や微小管と異なり、全体がらせん形をしているのが大きな特徴である。細菌が泳ぐのは、細胞壁中の基部構造が左巻のべん毛らせんを、菌体側から見て右回りに回転させることによっているらしい^{1,2)}。すなわちべん毛は船に於るスクリューの役割を果していると考えられるが、これを遺伝的に一義的に形が決定されている、静的な構造と見なすことは、適切でない。べん毛は環境条件に応じて、数種の形に変換しうるからである。本稿では筆者の経験^{3,4)}を中心に、この多型変換現象とそのモデル的な考察を紹介する。なお重合等を含むべん毛一般の解説としては、最近の総説⁵⁾を参照されたい。

1. 様々な多型性

多型性 (Polymorphism) という言葉は、主として結晶学と生物学で用いられる。結晶学的な多型性が純粋に分子の配列の問題であるのに対して、生物学のそれは遺伝情報やその発現が関与した、複雑な要因に基づく現象を指すことが多い。ここで扱うべん毛線維は生物の器官であると同時に、蛋白質分子が規則正しく、言わば結晶状に配列したものであるから、その多型性も生物学的かつ結晶学的な面を持っている。以下にべん毛に於る種々の多型性をまとめておく。

a) 突然変異：突然変異によって泳げなくなった菌株の一部には、べん毛の形が異常になったものがある。湾曲型 (*curly*)⁶⁾、直線型 (*straight*)^{7,8)}等のべん毛が有名で、そのうちのあるものは、フラジェリンの構造遺伝子の点突然変異によるものであることが証明されている。また最近では、*polymorphous*と命名された、文字通りいろいろな形のべん毛を生やす菌株も、飯野ら⁹⁾によって単離された。重要なのは、突然変異によって生じるべん毛形が、たいてい数種類の形に分

類され得るという事実である¹⁰⁾。このことは、もともとべん毛は数種の形をとり得て、突然変異によって変化するのがそれら多型の相対的安定性であると考えれば説明がつく。

b) 菌の生育環境：パラフルオロフェニルアラニンを含む培地で正常なサルモネラ菌を培養すると、湾曲型べん毛が生じる¹¹⁾。同様の培地で緑膿菌が直線型を生やすようになることも見出された¹²⁾。

c) フラジェリンの共重合^{13,14)}：サルモネラ菌 SJ 814 の直線型べん毛のフラジェリンと正常なものとを、いろいろな混合比で試験管内で共重合させる。直線型由来のフラジェリンの割合が大きいと、共重合した再構成べん毛のピッチは短くなるが、混合比に対して直線的に変化するのではなく、決まった5種の形が現われ、その出現頻度が混合比に依存する。組成が一定のべん毛自体の多形変換の可能性が、この実験から予測された。

d) 多型的重合¹⁵⁾：フラジェリン単量体は、硫酸の存在下で重合してべん毛になるが、その際イオン強度が高いと、べん毛様の直線型構造が生じる。この直線型はイオン強度を下げてもらせん形に変換しない。高イオン強度下で単量体溶液にべん毛の断片を加えるとべん毛が成長するが、この直線型重合体の断片を加えると直線型が成長する。すなわち重合の核の種類によって、全体の形が決まる。この現象は、結晶学的な多型性の例であると考えれば、よく理解できる。

e) 多型変換：次節以下で述べられるこの現象は、1950 年代に Pijper¹⁶⁾によって発見された。彼は日光を光源とする優秀な暗視野顕微鏡で、ある種の細菌のべん毛が時折ピッチが半分のらせんに変換することを観察し、この現象を '*biplicity*' と呼んだ。彼の論文には、現在の眼で見ると、べん毛一本ずつが写っていると思われる写真も出ている。しかし 1974 年に Macnab¹⁷⁾が指摘するまで溶液中のべん毛一本ずつが光学顕微鏡で観察できるとは考えられず、その試みもなされなかった。その後、宝谷¹⁸⁾が溶液中の再構成べん毛一本ずつの写真記録に成功して、多型変換を再現性よく

Polymorphic Transition in Bacterial Flagella

*Ritsu KAMIYA (Institute of Molecular Biology,
Faculty of Science, Nagoya University)

図1. SJ 670 べん毛の暗視野顕微鏡写真³⁾. a) pH 7.0, b) pH 4.7, c) pH 4.0. スケールは10 μ m

図2. SJ 670 べん毛に見られる直線型を除く全多型 (スケールは5 μ m)

図3. SJ 670 べん毛の状態図³⁾.

研究する道が開けたのである。

2. 多型変換現象³⁾

運動性のあるサルモネラ菌 SJ 670 のべん毛を単離、再構成¹⁹⁾して、暗視野顕微鏡で観察する。べん毛の太さは実際には200 $\text{\AA}$ だが、光学顕微鏡では分解能程度の中(約0.2 μ m)を持った線維として見える。ガラスに弱く付着する傾向があるので、数秒間の露出で写真をとることができるし、注意深く焦点を合わせると、巻き方の左右も決定できる²⁰⁾。図1 aに示すように、このべん毛は中性の pH では野生型に共通の、正常型 (*normal*) と呼ばれる形を持つ。これはピッチ約2.3 μ m、直径0.4 μ m程度の左巻らせんである。ここで少量の HCl を加えて pH 値を下げていくと、一部のべん毛が *coiled* 型と呼ぶバネ状のらせん (ピッチ0.5 μ m、直径1.2 μ m、左巻) に変換し、pH 4.7 位ではほとんど全部がこの形をとるようになる (図1 b)。さらに pH を下げると、今度は *coiled* 型から *curly* 型と言う右巻らせん (ピッチ1.2 μ m、直径0.3 μ m) への変換がおこる (図1 c)。この形は突然変異株に見られる *curly* 型と区別がつかない。pH 4.0 ではほとんどすべてが *curly* 型として存在し、それ以下では脱重合ははじまる。いずれの場合も pH を上げれば速やかにもとの形にもどる。顕微鏡下で pH 値を変化させつつ観察すると、どの変換の場合でも、ある形のべん毛の一端から別の部分が数 μ m/秒のオーダーで成長するのが見られる。すなわち変換は転位的に進行する。

変換は pH の他、共存する塩の種類と濃度、温度等にも依存し、クエン酸等が存在すると直線型や *semi-coiled* 型という新しい形が現われることもある。今までにこのべん毛では6種の形が観察されている (図2)。図3に NaCl の濃度と pH 値の両方を変数とした時の状態図を示す。この図は各条件下に現われる最も顕著な形を印象に基いて記したものであり、境界線付近では2~3種の形が混在するから、それほど正確なものとは言えない。より定量的な記述をするのに、濃厚溶液の流動複屈折の測定が有効であった。流動複屈折値を pH に対してプロットすると、pH 4.7 付近に極小値が現われる (図4)。これはこの pH 値に於て多くのべん毛が配向の悪い *coiled* 型になっているためであり、高塩濃度でそれが増大するのはその数が減ったためだと考えられる。これらのことは、顕微鏡の観察事実とよく一致する。また、流動複屈折の測定は温度コントロールが容易なので、変換の温度依存性を調べるのにも有効である。その結果は、温度が高いほど極小値が

図4. べん毛溶液の流動複屈折³⁾.

増大し、*coiled*型になりにくくなることを示した。

中間的な条件下では、べん毛試料中には複数の形が混在しているが、注意深く観察しても多型間を揺動しているべん毛は認められない。この事実は、多型変換反応においていくらかのヒステリシスが存在することを予測させるけれども、流動複屈折の測定からは検出されなかった。あるいは流動場においてだけ、べん毛は多型間を揺動しているのかもしれない。実際に力学的な力の存在下で多型間の揺動がおこりうることは、宝谷²¹⁾によって示されている。

不思議なことに、アルカリ側の pH においても、酸側で見られたものとはほぼ同じ多型が現われることがわかった⁴⁾。このことから我々は、べん毛の形の決定に総電荷の絶対値や、酸性基と塩基性基の間の塩橋の数が重要であると考えている。

こういった多型変換現象はサルモネラ菌、大腸菌等のべん毛一般に広く観察され、ここに示した SJ 670 に特有のものではない。同じサルモネラ菌の SJ 25 のべん毛も、条件は異なるが、正常型以外に前述の *coiled* 型や *curly* 型とほとんど同一の形をとることができる。SJ 670 と SJ 25 のべん毛のフラジェリンは抗原性や分子量が大きく異なるが²²⁾、それにもかかわらず現われる多型のピッチは数%もちがわない。正常型らせんのパラメーターが多種の細菌で一定であるのは、その流体力学的性質が淘汰されて収束したためだと理解できようが、運動に直接関係のない他の多型の形が一定しているのは不思議である。正常型の形が与えられると、全多型の形が決定されてしまうということなのだ

ろうか。

3. モデル²³⁾

朝倉¹³⁾は、べん毛中のフラジェリン分子が形の異なる2つの安定状態をとりうると仮定して、多型性を説明するためのモデルを考案した。後に Calladine^{24,25)}が最近のデーターを考慮に入れた新モデルを提出したがその基本は朝倉の用いた仮定と同じで、本質的には同一と言ってよい。以下に我々のモデルを紹介しよう。

図5はO'BrienとBennett²⁶⁾が明らかにした、SJ 814直線型べん毛の微細構造の模式図である。ほぼべん毛軸方向に、11本の分子列が走っている。この列を

図5. SJ 814直線型べん毛の微細構造²⁶⁾.

素線維と呼ぶことにする。直線型べん毛の場合にはサブユニットの並び方に厳密ならせん対称性があるから11本の素線維はすべて等価だが、中心線がらせんに巻いた一般のべん毛中では、それらは等価ではあり得ない。モデルでは、この素線維の形にはもともと2つの安定形(RとL)があり、らせん型多型中には二種が何本かずつ混在していると考ええる。また、それら二種の安定性がフラジェリンの種類、環境条件等に支配されているとし、多型変換はR、L線維の本数が変化するためであると説明する。具体的にはある形のべん毛は、弾性変形を考慮に入れた紙モデルとして表わされる(図6)。このようなモデルで、実際に観察される各種の多型が説明できるだろうか。

まず、らせんを表わす別のパラメーター、〈ねじれ〉と〈曲げ〉を考える^{13,24,27,28)}。べん毛のように太さのある管がらせん型に巻いている時、管上でらせんの中心線から一番近い線と遠い線(それぞれ最内側線、最外側線と呼ぶ)を考えると、それらは等ピッチで直

図6. べん毛多型の紙モデル²³⁾.

径の異なるらせんである。管が全くの円周上を巻く場合以外は、最内側線と最外側線は微視的に一定の角 ($2\Delta\theta$) をなす。またらせん1周期に含まれる最外側線の全長 (L_o) は最内側線のそれ (L_i) より長い。その差の相対値 $\alpha = 2(L_o - L_i)/(L_o + L_i)$ は曲率 (κ) に対応し、 $\alpha = d\kappa$ (d は管の直径) である。ここで以上の $\Delta\theta$ と α をそれぞれくねじれ、く曲げと呼ぶことにする。これらはらせんのピッチ (P) と直径 (D) の実測値から、次式に従って計算される。

$$\alpha = 2\pi^2 dP/(\pi^2 D^2 + P^2)$$

$$\Delta\theta = 180dP/(\pi^2 D^2 + P^2) \text{ (deg.)}$$

先程の紙モデル (図6) のくねじれとく曲げを考えよう。ここでは Calladine に従って、それらを全く独立な量として考察する。R線維とL線維が等長で傾きだけが異なる場合、素線維の傾きはR線維、L線維の数とともに直線的に変化する。次にそれらの長さが異なる場合には、円筒はパイメタルの様に一定の曲率で曲るから、全体としてくねじれとく曲げが組合わさって、らせん形を描く。このモデルでは、最外側線または最内側線が特定の素線維上に位置することになり、形態から求められるくねじれは微視的な素線維の傾きに等しい。Calladine²⁴⁾によれば、この場合のく曲げは、図7のように長さの異なる黒白二種

図7. く曲げを説明する Calladine²⁴⁾のモデル。

の棒を混ぜた時の、円盤の傾きを求める問題と等価である。ここで両者の弾性率は等しいと仮定しておく。簡単な力学的計算によって、この円盤の傾きは黒または白棒の数に対して正弦曲線的に変化することがわかる。したがって、以上の結果を合わせると、く曲げをくねじれに対してプロットした場合、各多型に対する点は正弦曲線上に、離散的に分布するはずである。そして実際、今までに観察されたべん毛多型は、ほぼそのような関係を満たすことが認められた (図8)。このことは、こういった二状態モデルの考え方の正当性を、ある程度支持するものと考えられる。

図8. く曲げとくねじれのプロット。I~Ⅶは共重合体に見られる多型^{13,14)}。

このモデルに従えば、べん毛が直線型になるのは、11本の素線維すべてがRかL状態になっている時である。すなわち直線型べん毛には二種類あること、また二種類しかないことが、予想される。図8に於てく曲げがゼロの点は、それらの直線型のくねじれが大体左巻に2.5°、右巻に7°程度であることを示している。ところが全くうまい具合に、実際に二種類の直線型べん毛が見つかった。一つは図5に記した SJ 814 のもので、素線維がべん毛軸に対して約7°傾いており、さらにこのフラジェリンは正常なものと共重合すると右巻の多型を与える^{13,14)}から、予想される二種のうちの右巻タイプのものであると想像される。もう一種は近藤と柳田²⁹⁾が大腸菌の変異株 *hag 177* に見出したもので、素線維の傾きがずっと小さく、フラジェリンの共重合で右巻の多型を生じない。さらに最近、このべん毛が弱アルカリ性 pH 下で正常型に変換すること³⁰⁾、逆に多くの正常型べん毛がクエン酸存在下でこれとよく似た直線型に変換することもわかった³¹⁾。電顕写真の光回折像から素線維の傾きを求めると、その巻き方の左右はまだわからないが、絶対値はクエン酸で変換した直線型 *hag 177* のものも約2.5°で

あって、モデルの予想する左巻タイプのものの値とよく一致している。当初 R と L の二状態を仮定したのは実はアロステリック理論³²⁾の模倣であり、それほどの根拠があったとは考えられないが、このようにその二状態を反映する直線型が見つかるのは、その仮定が結構正しかったからではなかろうか。

最近、白木原と若林³³⁾は電顕画像解析によって、SJ 814 べん毛の三次元像を得ることに成功した。それによると、べん毛中のフラジェリン分子は直線型においてすでに二つの形状に分化しているらしい。簡単のために本稿では彼等の成果は考慮に入れなかったが、今後そのような微細構造の実体に基いたモデルが作られることが望まれる。

4. おわりに

生物界には多数のらせん構造が見られるが、細菌べん毛はその大きさ、らせんになる理由の点で、他にあまり類のないものである。それに、べん毛ほどらせんである必要があつてらせんであるものも珍しい。一種類の部品で部品自体の大きさの数百倍のピッチを持つらせんを正確に作りあげる細菌の手腕は、進化の底知れなさを感じさせるのに十分である。しかし多種のべん毛に共通した多型変換の能力は、どのような進化的圧力の産物なのだろうか。最近走性との関連を指摘した論文³⁴⁾が現われたが、べん毛の多型変換の生理学的意義はまだほとんど明らかでないと思われる。今後の研究に待ちたい。

文 献

- 1) M. Silverman, M. Simon: *Nature*, **249**, 73 (1974)
- 2) H. C. Berg: *Nature*, **249**, 77 (1974)
- 3) R. Kamiya, S. Asakura: *J. Mol. Biol.*, **106**, 167 (1976)
- 4) R. Kamiya, S. Asakura: *J. Mol. Biol.*, **108**, 513 (1977)
- 5) 朝倉昌, 神谷律: 生命科学の基礎 (日本生物物理学会編), **3**, 29, 東京大学出版会, 東京 (1977)
- 6) T. Iino: *J. Gen. Microbiol.*, **27**, 167 (1962)
- 7) T. Iino, M. Mitani: *J. Gen. Microbiol.*, **49**, 81 (1967)
- 8) R. J. Martinez, A. T. Ichiki, N. P. Lundh, S. R. Tronick: *J. Mol. Biol.*, **34**, 559 (1968)
- 9) T. Iino, T. Oguchi, T. Kuroiwa: *J. Gen. Microbiol.*, **81**, 37 (1974)
- 10) E. Leifson: *Atlas of Bacterial Flagellation*, Academic Press, New York and London (1960)
- 11) D. Kerridge: *Biochim. Biophys. Acta*, **31**, 579 (1959)
- 12) T. Suzuki, T. Iino: *J. Bacteriol.*, **129**, 527 (1977)
- 13) S. Asakura: *Advan. Biophys.*, **1**, 99 (1970)
- 14) S. Asakura, T. Iino: *J. Mol. Biol.*, **64**, 251 (1972)
- 15) R. Kamiya, S. Asakura: *J. Mol. Biol.*, **87**, 55 (1974)
- 16) A. Pijper, G. Abraham: *J. Gen. Microbiol.*, **10**, 452 (1954)
- 17) R. M. Macnab, D. E. Koshland Jr: *J. Mol. Biol.*, **84**, 399 (1974)
- 18) H. Hotani: *J. Mol. Biol.*, **106**, 149 (1976)
- 19) S. Asakura, G. Eguchi, T. Iino: *J. Mol. Biol.*, **10**, 42 (1964)
- 20) K. Shimada, R. Kamiya, S. Asakura: *Nature*, **254**, 332 (1975)
- 21) 宝谷純一: 第15回生物物理学会年会 (広島, 1976年)
- 22) H. Kondoh, H. Hotani: *Biochim. Biophys. Acta*, **336**, 117 (1974)
- 23) 朝倉昌, 神谷律: 第14回生物物理学会年会 (大阪, 1975年)
- 24) C. R. Calladine: *J. Theor. Biol.*, **57**, 469 (1976)
- 25) C. R. Calladine: submitted to *J. Mol. Biol.*
- 26) E. J. O'Brien, P. M. Bennett: *J. Mol. Biol.*, **70**, 133 (1972)
- 27) J. Lowy, M. Spencer: *Symp. Soc. Exp. Biol.*, **22**, 215 (1968)
- 28) K. Wakabayashi, T. Mitsui: *J. Phys. Soc. Japan*, **33**, 175 (1972)
- 29) H. Kondoh, M. Yanagida: *J. Mol. Biol.*, **96**, 641 (1975)
- 30) S. Matsuura, R. Kamiya, S. Asakura: *J. Mol. Biol.*, in the press
- 31) 神谷律, 朝倉昌, 若林克三, 岩田博, 会田燧武朗: 第16回生物物理学会年会 (仙台, 1977年)
- 32) J. Monod, J. Wyman, J. -P. Changeux: *J. Mol. Biol.*, **12**, 88 (1965)
- 33) 白木原康雄, 若林健之: 第15回生物物理学会年会 (広島, 1976年)
- 34) R. M. Macnab, M. K. Ornston: *J. Mol. Biol.*, **112**, 1 (1977)

(1978年1月12日受理)