大腸菌の走化性

外界からの化学的刺激に対応して大腸菌が自身の行動を制御する走化性の機構は、いまやそれに関与する刺激受容体→情報変換器→効果器のそれぞれがタンパクとして同定されはじめ、その間の相互作用の仕組みも明らかにされようとしている。それは高等生物の感覚機構を分子レベルで理解する上で重要な手がかりを与えるであろう。

林 博 司 Hiroshi HAYASHI

名古屋大学理學部分子生物学研究施設

遺伝情報がすべての生物にはほぼ共通であることが示されて以来、生物の種々の特性を生み出している仕組みを分子の機能にまで還元して扱うと、ひとつひとつの特性の基本的な仕組みは生物種を通じてほぼ共通だという考えが強い説得力をもつようになってきた。また、分子レベルでの研究には、世代時間が短く、遺伝的構成を一定に保ちやすい微生物の系が非常に有利な材料として役立ってきたことはいうまでもない。ところで、生物は環境を検知する感覚機構をそなえている。感覚に関する研究は、今まで主として電気生理学の手法を用いて進められ、十分な成功をおさめてきた。しかし、感覚機構についての分子レベルでの理解は、遺伝情報について達成された理解と比較すると、かなり限られたものであることがわかる。

運動性をもつ細菌が化学物質に集ってくる現象——走化性——はすでに19世紀から知られていた。1960年代後半に入り、米国のAdlerにより走化性の研究が近代生物学の光の下に持ち込まれた。走化性の基本的な成り立ちは、環境を検知し、その情報に従って行動を制御するという形であり、高等生物の感覚機構と同様の役割を果たしている。しかも、大腸菌は前述のように、分子レベルでの研究にとって良い材料であり、その走化性の機構の理解は、高等生物での感覚機構の基本的な仕組みを理解するための一助となるはずである。以下に、大腸菌の走化性に関する現在までの知識を解説してゆこう。発見の歴史的な順序には必ずしも忠実でないことをお断り

しておく。

1. 走化性の基本的な仕組み

径1~2 μm の桿菌である大腸菌 (*Escherichia coli*) は、周毛性のべん毛数本(長さ10 μm 前後)をもつ。べん毛はフラジェリンという構成タンパクのせんい状集合体であり、全体としてらせんをなしている。大腸菌の運動がこのべん毛の回転によって行なわれることは、Bergらによる次のような実験から示された。まず、菌体のべん毛の数を減少させて、菌体あたり1本程度しかべん毛をもたないようにする。このような状態にした菌のべん毛を、抗フラジェリン抗体を用いて固体表面に固着させる。すると、菌はもはや泳ぐことはできないが、固着したべん毛を軸として回転運動を示すのである。すなわち、べん毛の基部にはモーターがあり、そのモーターがべん毛を回転させることにより推進力を得ていると考えられる。大腸菌のべん毛は通常、菌をけん引するのではなく、押している。複数のべん毛がある場合は、これらのべん毛が束を作って回転していることが、暗視野顕微鏡を用いた観察により確かめられている。泳いでいる菌を顕微鏡下で観察すると、ほぼ直線か、ゆっくりとした弧を描いて泳いでいるが、1~2秒に1度くらいの割合で急激な方向転換を示す。こうした方向転換は、べん毛の回転方向を逆転させることにより、一旦べん毛の束をほどき、再び前進回転にもどすことによって、以前とは異なった方向へ泳ぎ出すという機構によって成り立って

いる。つまり、菌の泳ぎは、べん毛の回転方向によって、直進（べん毛は反時計まわり）あるいは方向転換（時計まわり）になる（べん毛のらせんのむき——外力によっても変わりうる——によっては反時計まわりでも方向転換になるが、こうした事実については本稿では深く立入らない）。

溶液中を自由に泳いでいる大腸菌の懸濁液中に誘引剤を含む溶液を入れた毛細管を挿入すると、数分の間にその毛細管のまわりに大腸菌が集ってくる。この現象を正の走化性と呼ぶことにする。毛細管中に忌避剤を入れると大腸菌は毛管のまわりから遠ざかり、毛管のまわりに菌の空白域ができる（負の走化性）。効果剤（正または負の走化性をひき起こす物質）が菌の行動を制御する方法は、菌の泳ぎの様式（直進、方向転換）を変えることによって行なわれる。効果剤を種々の方法で菌に与え、その時の泳ぎの様式の変化を調べると、大腸菌は効果剤濃度の空間的な変化（たとえば菌体の前と後での濃度差）を感じているのではなく、時間的な変化を感じていることがわかる。つまり、一様な溶液中でも効果剤の濃度が時間的に変化すれば、菌はそれを刺激として感じ、それに応じた応答を示す。誘引剤の濃度上昇という刺激に対しては方向変換の頻度を抑制し、何の刺激も受けていない時より長い時間の間直進運動をする。忌避剤の濃度上昇に対しては、逆に方向転換の頻度が増加する。おのおの場合について濃度の時間変化を逆にすると、泳ぎの行動もそれぞれまったく逆になる。

以上の事実をもとに、これ以降の記述では方向転換頻度を減少させるような刺激を正の刺激、その逆を負の刺激というように区別する。効果剤の濃度勾配が存在する溶液中を泳ぐ菌は、その泳ぐ方向によって効果剤濃度の時間変化を正の刺激として感じたり、負の刺激として感じることになる。その刺激に応じて、方向転換の頻度を変化させ、正あるいは負の走化性を示すことができる。

以上をまとめると、大腸菌の泳ぎには直進と方向転換の2つのモードがあり、環境中の化学物質の濃度の時間変化を刺激として感じ、その情報をもとにして2つの泳ぎのモードを使い分け、誘引剤には集り、忌避剤からは遠ざかる。種々の化学環境の中で大腸菌の泳ぐ速度に変化のあることが観察されているが、速度の変化は方向転換頻度の変化ほどは走化性の機構に対して重要ではないらしい。

2. 刺激の受容分子

走化性を惹起する化学物質にどのようなものがあるかは、Adler らにより徹底して調べられ、多くの誘引剤、忌避剤、それらに対する大腸菌の感度、つまり閾値濃度が調べられた。そして、種々のアミノ酸、単糖、いくつかの2糖、金属イオン、酸素などの低分子物質が効果剤となることが示された。ある物質が誘引剤であるか忌避剤であるかということと、その物質の生体にとっての有用性とは必ずしも対応しない。たとえば、フェニルアラニン、ロイシンなどは忌避剤である。その他の多くの食物分子（アミノ酸、糖）は誘引剤として働く。いくつかの効果剤は、特定の受容分子を介して走化性の情報を生み出すことが示されている。

最初に明らかにされた走化性情報の受容体は、ガラクトース結合タンパクである。このタンパクは菌のペリプラズム中に存在し、ガラクトースの輸送に関与していることが知られていた。ガラクトース結合タンパクを欠損する変異株は、ガラクトースに対する走化性のみを失う。一方、ガラクトース結合タンパクは存在するが、ガラクトースの輸送ができない変異株は、ガラクトースに対して正常な走化性を示す。したがって、走化性の発現には、ガラクトース結合タンパクにガラクトースが結合することが必要充分な条件であり、ガラクトースが菌体内にとり込まれる必要はない。ガラクトース結合タンパクに結合するガラクトースのアナログはガラクトースと同様にこのタンパクを介して走化性の情報となると、走化性の程度とガラクトース結合タンパクのリガンドによる飽和度との間に並行性があることなど、多くの実験事実により、ガラクトース結合タンパクがガラクトースとそのアナログに対する走化性の情報受容分子であることは明らかである。

ペリプラズム中には、リボース結合タンパク、マルトース結合タンパクも存在するが、それぞれが対応する糖に対する走化性情報の受容分子であることも示された。アミノ酸の受容体は膜結合性のタンパクであることが示唆されているが、前述の糖の受容分子のように、明確な形で受容分子が示されていない。しかし、少数にしても受容分子が存在し、それぞれ独立の誘引剤の刺激受容に関与していることが示されているため、受容体→情報変換器→効果器という図式が大腸菌の走化性の機構

についても成立すると考えることができる。受容体から効果器までの情報変換の道すじは、以下に述べるように、行動解析と遺伝学と生化学の組み合わせによっていくつかの知識が得られてきた。

3. 信号の統合

情報変換器の性質を調べるための一般的手法として、刺激と応答を定量化し、その間の関係を調べることができる。大腸菌の場合、刺激と応答は次のような方法によって定量化された。刺激の大きさの増減は、通常実験の便宜のため、菌の懸濁液中の効果剤の濃度を一瞬に増減させて行なう。応答として定量するのは、正（負）の刺激を与えた時に直進（方向転換）運動を続けるその持続時間である。この持続時間は、効果剤濃度の段階的変化の大きさと相関している〔濃度の時間変化 ($ΔC/Δt$) が充分大きい時は、むしろ $ΔC$ のみの関数として扱うことができる〕。効果剤濃度を増減させてから一定の持続時間を経て、菌はもとの行動に戻る。効果剤濃度は一旦上昇した後そのままに保たれているため、菌は新しい効果剤濃度に適応したという説明がなされている。効果剤を与えた直後に行動が変化する過程を‘興奮’、もとの行動に戻る過程を‘適応’と便宜的に呼んでいる（この用語にはまだ曖昧さが残っているのは仕方のないことである）。効果剤濃度の変化が大きければ、適応が完成するまでの時間が長い。

走化性の信号は統合されている。正の刺激と負の刺激を同時に与えて菌の泳ぎを調べると、菌は2つの刺激の大きさの和に近い応答を示す。すなわち、正の刺激が負の刺激より大きければ正の刺激に対する応答をするが、その応答は正の刺激単独の時より小さい。正負おのおの

の刺激の強度を逆にすれば、応答も逆になる。こうした信号の統合の大きな道すじについての知識は、走化性の突然変異株の研究によって得られた。

走化性変異株は3つの型に分類できる。第1はすべての効果剤に対する走化性を失うもの、第2は特定のいくつかの効果剤のみに対する走化性を失うもの、第3は特定の1つの効果剤のみに対する走化性を失うものである。第1の型の変異株（当然のことであるが、べん毛をもち、泳ぐもののみを指す）は、定常状態での泳ぎが直進のみのもの、方向転換のみのものに分かれる。このタイプの変異株を作る遺伝子（*che* 遺伝子）は、少なくとも6個あることがわかっている（表）。第2の型の変異株のように、1つの遺伝子の変異でいくつかの効果剤のみに対する応答が消失することから、いくつかの受容体からの情報が特定の分子に集合し、統合されて、次のさらに大きな統合の段階へと伝えられる可能性が示唆される。実際、第2の型の変異株を生み出す遺伝子は、今までに3座知られている。*tsr*（セリン、トレオニン、ほとんどの忌避物質に対する情報の通り道）、*tar*（アスパラギン酸、マルトース、 Co^{2+} 、 Ni^{2+} など）、*trg*（リボース、ガラクトース）の3種である。第3の型は、前述のように受容体に対する変異株である。

以上述べたことから、走化性情報の変換の道すじは次のようにまとめることができる。効果剤はまず受容体によって検出され、その情報は3あるいは4種（4種である理由は後述）の分子のいずれか（特定の1個？）に伝達されて第1の統合を受け、さらに統合されてすべての走化性情報に共通な道すじに入り、べん毛運動を制御する。

ところで、このように多数の *che* 遺伝子が見いだされ、

走化性にかかわる遺伝子とその産物

遺伝子名	染色体上の位置(分)*	産物の分子量	存在場所	変異株の表現型、タンパク機能など
<i>che A</i>	↓ 42	76,000, 66,000	膜、細胞質	直進
<i>che W</i>	↓ 42	12,000	細胞質	直進
<i>tar</i>	↗	~62,000	膜	MCP（アスパラギン酸など）
<i>che X</i>	↗	28,000	膜、細胞質	直進型、MCP-メチル化欠失、適応現象なし、負の刺激に応答
<i>che B</i>	↗	38,000	膜、細胞質	方向転換型、MCP-脱メチル欠失、正の刺激に弱く応答
<i>che Y</i>	↗	8,000	細胞質	直進型
<i>che Z</i>	↓ 42	24,000	膜、細胞質	方向転換型、正の刺激に応答
<i>tsr</i>	99	~65,000	膜	MCP（セリンなど）
<i>trg</i>	33	~60,000	膜	MCP（リボース、ガラクトース）
?	?	~45,000	膜	第4の MCP（ホスホトランスフェラーゼ系?）

* 全体を100分とする値。

それぞれの遺伝子に変異が起こった場合の表現型も知られてきたが、*che* 遺伝子がどのようなタンパクをコードしているかは不明であった。しかし 1977 年に、Simon らは、いわゆる遺伝子工学の手法を用いて *che* 遺伝子を λ ファージ上にクローン化し、そのタンパク生産物を同定することに成功した。その結果も表に示してある。こうして、 λ -hybrid 法を用いて各 *che* 遺伝子の産物の分子量（変性状態）が明らかになったところで、それぞれの遺伝子産物の機能の解明が次の問題となった。分子量以外何も知られていないタンパクの機能を調べようという、生化学の常識からはずれた難問が解決の糸口をつかんだのは、以下に述べるように偶然の発見がその原動力となった。

4. タンパクメチル化反応の関与

Adler と Dahl は、種々の効果剤を毛細管中に入れ、その毛細管に集ってくる菌の数を調べて走化性を定量化する実験をしている際に、メチオニン要求性の株がメチオニン飢餓状態では走化性を示さないという意外な事実を発見した。メチオニンを与えてやれば走化性を示すため、メチオニンあるいはその代謝物が走化性の発現に必須であることがわかった。原形質膜に組み込まれているタンパクが S-アデノシルメチオニン、ひいてはメチオニンからメチル基を受容すること、そのメチル基の授受が

走化性の情報と関連していることが示され、このタンパク質に、メチル基受容能のある走化性に関係したタンパクという意味で MCP (Methyl-accepting Chemotaxis Protein) の名が与えられた。

MCP のメチル化は、グルタミン酸の γ -カルボキシル基に起こる。メチル化の結果生じるものはメチルエステルである。MCP のメチル化が走化性の情報変換にかかわるかわかり方を明らかにするために、Adler らはメチオニン要求株にメチオニンを与奪する実験を走化性の刺激と組み合わせて行ない、種々の条件での菌の泳ぎのパターンを調べた結果、MCP のメチル化が起こらない条件では菌は刺激に適応しないことを示した。メチル化という生化学の手法で調べられる出力を得たため、MCP と *che* 遺伝子産物との関係が以下に述べるようにいくつ

か明らかになった。大腸菌のタンパク合成を阻害し、メチル基のみを標識したメチオニンを与えると、メチル化を受けるタンパクのみが標識される。メチル基のみを標識したタンパクを 2 次元電気泳動によって分画すると、5 個の標識タンパクが認められる (図 1)。ペプチド伸長因子 (EF-Tu), *tsr*, *tar*, *trg* の遺伝子産物、それと末同定ではあるが、新しい種類の MCP である。最後の MCP (MCP-IV) は、ホスホトランスフェラーゼ系の糖の信号伝達に関与している可能性が高いが、この MCP の変異株が見いだされ

図 1 メチル化を受けるタンパク

メチル基を標識したタンパクを 2 次元電気泳動で展開すると 5 個のスポットが見られる。走化性の変異株はこれらのスポットのうち特定のスポットが消失している。メチル化を受けるタンパクの骨格がそれぞれの遺伝子の産物であることは、 λ -hybrid 法、 35 S 標識タンパクを用いた 2 次元ゲル電気泳動による分析で示されている。

るまでは確実なことはいえない。

以上述べたところから、信号の統合で述べた第1の統合を行なう場所は、どうやら MCP であると考えられる。MCP のメチル化と刺激との関係は次のように要約できる。

i) 正の刺激を与えると、その刺激の通り道にあたる MCP にメチル基が導入される。

ii) 負の刺激を与えると、その刺激の通り道にあたる MCP からメチル基が奪われる。

iii) 何の刺激もない条件（意図的には加えていないという意味でしかないが）でも、MCP 中のメチル基は一定の代謝回転をしている。

これらの結論は、放射性メチル基の MCP へのとり込みを *in vivo* の条件で調べて得られた結果であるため、どうしてもかなり定性的な結果になっている。メチル化、脱メチル化反応と刺激とが定量的に結びつくまでには、まだしばらくの時間が必要であろう。

5. MCP メチル化の制御因子

MCP は受容体からの信号によってメチル化・脱メチル化を受ける。受容体からの信号は、リガンドを結合した受容体と MCP との直接の相互作用であろうと考えられる。受容体が膜電位の変化などのように、どの受容体から出たかわからない信号を出すとしたら、ある MCP と一群の受容体のみとの間に見られる対応関係をうまく説明できない。実際に、受容体と MCP との間に直接の相互作用があることは、小祝らによって示された。マルトースの受容体であるマルトース結合タンパクを単離し、Sephrose 4B に長いスぺーサを介して不溶化したマトリクスに、標識した MCP を洗剤で可溶化して吸着させる。マルトースの信号の通り道である *tar*-MCP が、マルトース存在下では吸着されるが、マルトースの存在しない条件では吸着されない。以上のことから、リガンドを結合した受容体のみが MCP と複合体を作ると考えられている。もちろん、これを直ちに一般化することはできない。たとえば、ある種の効果剤は直接 MCP と相互作用をする可能性が否定されたわけではない。

MCP は走化性の情報に従ってメチル化・脱メチル化を受けるが、それぞれの反応を支配している因子がほぼ明らかになっている。*che X* 変異は MCP への放射性メチル基のとり込みを阻害する。*che B*、*che Z* も同様な

影響をもつが、*che X* は顕著ではない。膜画分 (MCP が存在) に種々の変異株から得た上清画分 (*che X*、*che B* などの産物がある；前表参照) を加えることにより、*che X* 遺伝子産物が MCP のメチル化に必須であることが示された。同様に、*che B* 遺伝子産物が MCP の脱メチル化に必要なことも示された。実際、それぞれの変異株中には MCP のメチル化を受けていない分子 (*che X*)、メチル化を受けた分子 (*che B*) が蓄積する。

最近、MCP は2個以上のメチル基を受けとることがわかり、MCP のメチル化・脱メチル化反応はかなり複雑な過程であることがうかがわれる。しかも、MCP は膜中に4(?)量体として存在することも示されたため、MCP 自身がメチル化・脱メチル化反応に対してアロステリックな挙動を示すことも予想される。こうした細かい反応過程の解析も、今後に残された問題であろう。さらにつけ加えると、MCP のメチル化反応は、*in vitro* 系でみる限り、*che Z*、*che A*、*che W* などの遺伝子産物によっても影響を受けるため、その解析には上に述べた困難以上の困難（面白さ）があると予想される。MCP は、受容する分子に応じてリガンド結合部位のタンパクを取り換え、それ以後は他の *che* 遺伝子産物と複雑な複合体を作りながら走化性の情報を生み出す万能型受容体として働いているように思える。

6. MCP メチル化の役割

MCP のメチル化が適応現象に必要なとされることは前述の通りであるが、興奮に際しても MCP が必要とされることが示されている。つまり、MCP の動きは走化性の情報変換機構の中心になる。MCP の挙動と菌の行動とはまだ明確には結びついていない。刺激に適応する時に MCP のメチル化が進み、脱適応（興奮とも解釈できる）に際して脱メチル化が起こること、MCP のメチル化が進んだ *che B* 変異株は方向転換型であること、同じ方向転換型の *che Z* 変異株が正の刺激によく応答するのに対して、脱メチル反応に障害のある *che B* 株は小さな応答しかできないこと、MCP のメチル化がほとんどない *che X* 株が直進型であること、などから MCP の役割について最初に考えられる最も単純なモデルは、次のようになる。すなわち、菌の泳ぎの行動は MCP のメチル化の度合いによって支配されていて、正の刺激には *che B* 産物による脱メチルという形でメチル化の度

刺激の受容→情報の統合, 変換過程→べん毛運動の制御

図2 走化性の機構とタンパクの相互作用

走化性にかかわる遺伝子産物間の相互作用を矢印で示す。根拠の強いものから、一応の示唆のあるものまで区別しないで書いてある。べん毛モーターも多数のタンパクから成る構造体である。

合いが下れば直進、上れば方向転換、しばらく経ってもとのレベルに戻ると適応するという考え方である。

しかし、こうしたモデルでは菌の刺激応答能は適応している化学環境によって異なるという実験結果を説明できない。忌避剤に対する適応にもメチル化が必要だということも説明できない。現象だけを述べれば、「正の刺激は直進のシグナルを生み出す。MCPをメチル化すると方向転換のシグナルができる。2つのシグナルが釣り合ったところで、菌は刺激前とちがった平衡状態になる」と言える。しかし、今のところ、MCPのメチル化の役割を負の刺激まで考えに入れて矛盾なく説明できるモデルは考え出されていない。筆者は、MCPがいくつかの状態の間を移動しながらひとつのサイクリックな変化をし、そのサイクルの回転速度が化学環境に依存して（サイクルに加わるMCPの数が刺激の大きさによって異なる）、そのサイクルの2個所の異なった状態から正回転、逆回転を生み出すシグナルが出ている、という仮説に立っている。サイクルが平衡状態で回転している時が適応している状態であり、しかもこの状態は異なる化学環境のもとでは、それぞれ別の状態になりうる。今のところ、この考え方はそれほど旗色がよくないが、筆者らがMCPのメチル化反応の制御機構を追求する motive force にはなっている。

最後に、行動の制御機構は遺伝学的手法でも追求されているので、紹介しておこう。

Parkinson は *che* 変異株の抑制変異を解析し、*che X* 産物と *che Y* 産物の間に物理的相互作用あるいは機能上の密接な相補性（相互作用）があり、*che B* 産物と *che Z* 産物の間にも相互作用のあることを示した。しかも、*che Y*、*che Z* の産物はモーターに存在するタンパクと

も相互作用があるという。今まで述べたように、走化性の情報受容から効果器までの道すじは、受容体で検出された効果剤濃度が菌1個に数千分子存在する MCP へ伝わり、最後に数個のモーターに伝えられるというものである。この過程は、多数のタンパクの複雑な相互作用のもとに行なわれている。おのおののタンパクは複数個の別のタンパクと相互作用をすることが示唆されている（図

2参照）。

このように、走化性の分子機構は複雑ではあるが限らない挑戦が可能な系となり、生化学で追求できる下地が完全に出来上ったといえよう。

文 献

解説ということで、原著（かなりの数になる）をまったく引用しなかったが、原著を調べたい方の便宜のために、原著が引用してあるいくつかの総説を文献として挙げさせていただく。

- べん毛運動について
H. C. Berg : *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.*, 4, 119 (1975).
- 誘引剤, 忌避剤, 受容体
J. Adler : *Ann. Rev. Biochem.*, 44, 341 (1975).
- 走化性全般
J. Adler : *J. Supramolecular Structure*, 4, 305 (1976).
D. E. Koshland Jr. : *Adv. Neurochem.*, 2, 277 (1977).
M. S. Springer, M. F. Goy & J. Adler : *Nature*, 280, 279 (1979).
- 遺伝解析
J. S. Parkinson : *Ann. Rev. Genet.*, 11, 397 (1977).

次号予定目次

<解 説>

高等動物における蛋白合成とその調節……………緒方規矩雄
細胞膜透過性と抗生物質耐性……………伊崎 和夫
フムレンの新しい閉環反応……………松本 毅, 白浜 晴久

今日の話題：低蛋白食適応と摂取エネルギー…井上五郎
ホルモン感受性の物質的うらづけ・筒井和義/マツノマダラカミキリの誘引・池田俊彦/発癌遺伝子とその産物・白木和子

蛋白性プロテアーゼインヒビターの構造と機能

……………三井幸雄, 外村耕一郎
新しいバイオマス原料の育成と利用……………小林登史夫

<連載講座>

天然物のX線構造解析(2)……………田村 千尋
<遺伝子操作シリーズ>

9. ガイドラインその後……………斎藤 日向
<農薬の作用の選択性>

2. 殺菌剤……………柿木 和雄
<海外だより>

半乾燥熱帯の農業……………松本 哲男