

べん毛モーターの実像を求めて

新技術開発事業団・創造科学 相 沢 慎 一
早稲田大学・教育・一般教育生物 山 口 滋

bacteria / flagellar motor / basal body / SDS-PAGE / multifunctional genes

はじめに

細菌（バクテリア）の運動は、その動きの様子や運動器官の構造が他の生体運動系と全く異なるユニークな運動系である。まず第一に、細菌はモーター（べん毛モーター）を持っており、らせん状のべん毛繊維を回転させて推進力を得ている。第二に、そのエネルギーはATPではなくて水素イオンの流れである。細菌のべん毛は、同じ名前を持つために、しばしば原生動物のべん毛と混同される。しかし、これら2つのべん毛はその構造も機能も全く異なることを新ためて強調しておきたい。

細菌だけが持つこのユニークな運動系には研究上次のような利点と欠点がある。その利点は、べん毛1本の動きを見ることができると他系ではできない単一機械の微妙な動きの様子が記録できる。欠点は、べん毛モーターにATPase活性のような簡単に測定できる酵素活性がないために、生化学的あるいは構造学的研究が立ち遅れた事である。その結果、「何が何に対して回っているのか？」という根本的な問題をあいまいにしたままで今日に至っている。

最近、筆者ら²⁾によるべん毛モーターの生化学的及び遺伝学的解析の結果、従来べん毛モーターと考えられていた部分はその一部でしかないことが明らかになると同時に、べん毛モーターの機能の全体像が浮かび上がってきたので紹介したい。べん毛研究の現状を述べる前に、その研究の歴史を簡単に振り返ることにより細菌べん毛の特殊性を明らかにしてみたい。

べん毛研究の歴史

細菌は17世紀末 Leeuwenhoek によって発見されたが、その運動とべん毛の関係が議論され始めたのは暗視野顕微鏡によって生きたままの細菌のべん毛が観察できるようになった20世紀初めのことである。しかし、当時見えていたのは1本のべん毛ではなく、

多くのべん毛が集まってできた束であった。染色法では数本見えたべん毛も暗視野顕微鏡では1本にしが見えなかった。この2つの観察法における見かけ上の矛盾を通して、べん毛が運動器官であるという説と“アーチファクト”であるという説が激しく対立した²³⁾。この論争も電子顕微鏡の出現によりべん毛の構造が詳しくわかるに従い、次第にべん毛運動器官説へと傾いていった。折しも、筋肉の分野では Huxley の「すべり説」が提唱されて生体運動系の研究はその勃興期を迎え、細菌の運動も筋肉の延長線上において捉える人々が出てきた。しかし、1960年代に入ってべん毛が精製され *in vitro* で再構成されるようになって、べん毛は1種類の蛋白質フラジェリンから成る結晶であることが証明され、その物性も筋肉タンパク質のそれとは異なることが明らかになった⁵⁾。1970年代に入り暗視野顕微鏡に工夫が凝らされ個々のべん毛が見えるようになり^{22), 40), 42)}、べん毛のらせんの巻き方やその動的变化が詳しく調べられた^{28), 29)}。当時の最も有力なモデルの1つでは、フラジェリンの周期的な構造変換によって発生するべん毛に沿ったらせん波の伝播により推進力が生じると説明された。しかし、べん毛を抗べん毛体でスライドグラスに固定しても菌体が回転するという発見や、さらに、べん毛のないポリフック変異株でも同様のことが示されたために、べん毛運動はらせん波の伝播ではなくてべん毛自身の回転によって生じると認識されるに至った⁵³⁾。これらの事実を踏まえて、回転運動という他の生物系には見られない奇妙な現象を最もうまく説明したのが1974年の Berg⁶⁾ のモデルである。彼は、その数年前に発見されていたべん毛基部体が回転の発生場所であると考えた。

基部体の発見はそもそもべん毛が運動器官であるか否かの議論に端を発する。べん毛は細胞表面の膜がこわれてできたアーチファクトであるという説を否定する人々は、多くの電顕観察を行ない、べん毛が細胞質

にその根元をおいていることを示した。べん毛は、外膜構造のこわれたスフェロプラストでも膜に固定されていて、その根元は白く丸い塊として見えた¹⁹⁾。この塊(基部体(basal body))は膜中に埋っていたので鮮明な形態は見えなかったが、1971年DePamphilisとAdler^{12),13),14)}はこの膜を界面活性剤で溶かすことにより、基部体の付いたべん毛^{*})を膜から単離し基部体の微細構造をあきらかにした。大腸菌から単離された基部体は、図1に示すように4枚のリングと1本の軸からなる美しい回転対称体である。その機能については当初べん毛を細胞につなぎとめているアンカーとしての役割以上には議論されなかったが、Bergのモデルが出てからはべん毛モーターの本体として重視されるようになった。

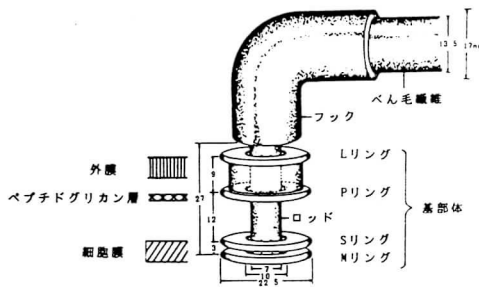


図1 大腸菌のべん毛基部体の模式図。^{12),13)}

やがて、べん毛の回転にはATPが不必要であることが示され³⁸⁾、当時やっと人々に受け入れられたMitchellの「化学浸透圧説」の水素イオンの流れが回転のエネルギーであることが実証された^{31),43),44),45)}。以後、いくつかの研究室でべん毛運動の解析が続けられているが、大勢はその頃やっと科学的取り扱いが可能になった走性の研究に移っていった¹⁾。細菌の走性に関しては本誌前々号の今榮ら²⁶⁾の総説をお読み頂きたい。

走性研究の成果のうちべん毛運動に関連して特筆すべき点は、長年議論的であった感覚情報処理系から運動系へのシグナルの最有力候補にタンパク質が挙がってきたことである^{8),49),50),52)}。すなわち、べん毛モーターは通常は一方方向にだけ回転していて、この

*) べん毛はべん毛繊維、フック、基部体の3つの部分から成る。従来、べん毛と呼ばれていた部分は正確にはべん毛繊維であるが、慣例に従って、ただべん毛という時は、このべん毛繊維を示す。

シグナルタンパク質がモーターと相互作用をすると逆回転が起きると考えられている。

ここで我々は「べん毛はなぜ回る?」という根本的な問題に立ち返ることにしよう。生体の動くメカニズムは、基本的には2つの成分の相互作用に起因する。アクチン・ミオシン系やダイニン・チュープリン系はそのよく知られた例である。べん毛の回転運動では一体、何が何に対して回っているのでしょうか?

何が何に対して回るのか?

一般的に機械のモーターの回転は、回転子と固定子の中で生じる。べん毛モーターでは、大腸菌の基部体に見られる4つのリングのうち細胞膜に接しているMリングを回転子とし、すぐその外側のSリングを外膜に結合した固定子とするのがBergのモデルである。細胞膜に接しロッドを介してべん毛繊維につながっているMリングを回転子と呼ぶのは妥当であるが、Sリングを固定子とするには2つの矛盾がある。まず大腸菌のSリングはどこにも固定されていないから固定子にはなれない。また、有柄細菌(*Caulobacter*)では、Sリングが2枚も観察されているが、それらが外膜に結合しているという証拠はない²⁷⁾。Sリングの機能は現在のところ不明である。2つ目の矛盾は、回転のエネルギー源である水素イオンの流れは細胞膜の内外にできるのであって、各種イオンや低分子の自由に通過できる外膜はエネルギー変換の場になれない、ということである。すなわち、固定子は細胞膜の中にあるいはその近傍になければならない。

べん毛モーターの実態を明らかにするために、その中心部である基部体の解析から始めよう。

基部体の精製

DePamphilisとAdlerの方法で精製した基部体は電子顕微鏡観察には十分な純度であった。しかし、べん毛全体のせいぜい1-2%でしかない基部体を生化学的に分析するには更に純度の高い試料を多量に必要とした。彼らの方法によって得た基部体をさらに蔗糖密度勾配遠心法等で精製することも試みられたが、収量が少なく再現性も悪かった¹⁶⁾。以後、後で説明する数例を除いて、基部体の解析がほとんどなされなかったのは次のような技術的な問題があったためである。

- (1) 基部体にはATPaseのような酵素活性がなく、簡単にその機能を計測する方法がない。
- (2) 構造が極めて小さく、また、膜中に埋まっているので、電子顕微鏡でもその細部および全容を見るこ

とができない。

- (3) 基部体は菌体あたりせいぜい10ケしかなく、また、膜成分と相互作用があるので精製が難しい。
- (4) べん毛の形態形成や機能発現には40ケもの遺伝子が関与していて、まだその機能のわからないものが多い。

筆者ら²⁾は(3)の難点を克服し、基部体を大量に精製する方法を開発した。スフェロプラストを界面活性剤で溶かすと大量の外膜小胞が生じる。この外膜小胞は基部体と同じくらいのサイズで性質も似ているためこれを基部体と完全に分離することは難しい。筆者らは、試料溶液をアルカリ性(サルモネラ菌でpH11、大腸菌でpH9)にすると外膜小胞が分解し可溶化することを見つけた。この処理の後、溶液中にある巨大分子はべん毛だけであるから、これを超遠心で集めるとほとんど純粋のべん毛が得られた。pH11という荒っぽい処理でも基部体の形態には変化が見られなかった。

精製したべん毛を酸(pH2.5)で処理すると、繊維は溶けてフックと基部体だけが残る。これをSDSゲル電気泳動^{37),46)}で分析すると、10種類のタンパク質(分子量:65K, 60K, 58K, 42K, 38K, 32K, 30K, 27K, 16K, 14K)からなることがわかった。このフックと基部体をさらにpH2.0で処理すると、フックとロッドが溶けてリングだけが残る(図2)。このリング分画には3種類のタンパク質(65K, 38K, 27K)が含まれていた。個々のリング構造をさらに分画してタンパク質と対応づける試みはまだ成功していない。

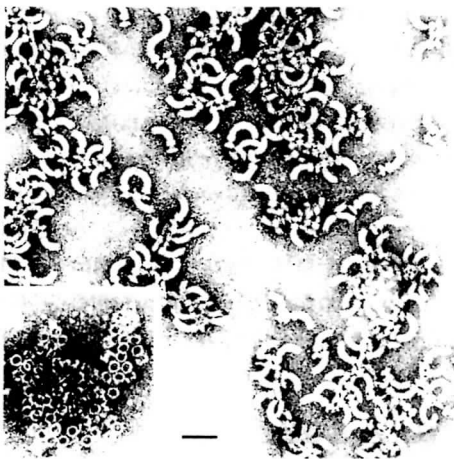


図2 サルモネラ菌の基部体及びリングの電子顕微鏡写真(スケールは100nm)。

さて、基部体の構成成分はわかったが、これを構造と遺伝子に結びつける直接的な証拠はない。そこで、これまでの基部体に関する断片的な情報を集め、個々の情報の辻つまを合わせつつ1つの絵に統一していった。その過程で最も重要な役割を果たしたのは遺伝学であった。

べん毛の遺伝学^{24),33),36),57)}

細菌の運動性を調べるには、運動性のない変異株を調べるのが遺伝学の常套手段である。現在までに、多くの突然変異体が集められFla⁻, Mot⁻, Che⁻という3つのグループに大別されている。

Fla⁻変異株はべん毛をもっていない(この変異の原因となる遺伝子を*fla*遺伝子と呼ぶ、以下同様)。Mot⁻変異株はべん毛をもつが運動できない。すなわち、このべん毛は回転しない(*mot*遺伝子)。Che⁻変異株は回転をするべん毛をもち運動することができるが、回転逆回転の頻度が正常でなく真直ぐ(smooth)泳ぐか、同じ所でギクシャクして(tumbly)止まっている。そのために走化性(chemotaxis)を示さない(*che*遺伝子)。

べん毛遺伝子は、大腸菌およびサルモネラ菌で共に約40ケ見つかっている。これらべん毛遺伝子は染色体上の3ヶ所でクラスターを形成しており、region I, II, IIIと呼ばれている。大腸菌とサルモネラ菌の遺伝子の名前は歴史的な理由によりそれぞれ異なっているが、ほとんどの遺伝子は機能の上から両属間で1対1の対応がついている^{*)}。つまり、ある遺伝子を欠くサルモネラ菌にそれに対応する大腸菌の遺伝子を導入すると正常に動く³⁶⁾。

さて、40余りもあるべん毛遺伝子は、べん毛形成にあたって全く無秩序に発現されるわけではなく、いくつかの階層構造を持って発現される。*flb_EB*, *fla_EI*はマスター遺伝子と呼ばれ、他のすべてのべん毛遺伝子の発現を制御している。ついで、中間グループの遺伝子が発現されモーターが形成される。そして、最後のステップでべん毛繊維の遺伝子*hag*、回転運動に必要な*mot A, B*および走化性に関係する*che*遺伝子が発現される³²⁾。

従って、もし中間グループのある遺伝子に突然変異が起こると、不完全な部品をモーターの構造の中に組

*) この名前から来る混乱をできるだけ避けるために大腸菌の遺伝子にはE、サルモネラ菌のそれにはSの添字をつけることにする。また、大腸菌の*fla*遺伝子の一部は*flb*遺伝子と呼ばれる。

み入れることができなかつたり、あるいはそれより下位にある遺伝子の発現が抑制されたりして不完全なべん毛が形成される。

基部体の前駆体

Suzuki ら^{54), 55), 56)} は多くの Fla^- 変異株をつぶしてその膜画分を電子顕微鏡で調べた。その結果、その中には、フックまで出来ているものや、基部体の部分構造を持つものが見つかった。そして、見つかった部分構造を小さい方から順に並べていくと、基部体形成の経路が出来上がった。

この経路図は基部体の部品とその構造遺伝子に対応づけるのに大変貴重である。例えば、 $fla_S F IX$ と $fla_S F I$ に変異が起こると L リングのない基部体ができるから、両方あるいはどちらかが L リングの構成タンパク質の構造遺伝子である可能性が大きいということである。さらにこの図からわかったことは、region I にある遺伝子群が基部体の大部分を形成しているということである。従って、その遺伝子群を集中的に調べれば基部体の構成成分が同定できるかもしれないということである。

しかし、現在の方法ではべん毛を持たない基部体を精製することはできない。そこで、ある条件下ではべん毛を生やす、条件付きの Fla^- 変異株を用いて基部体を精製した。

温度感受性 Fla^- 変異株の基部体

運動の温度感受性変異株は、40℃で成育するとべん毛が全く泳ぐことができないが、30℃で成育するとべん毛が生えて正常に泳ぐ。サルモネラ菌の温度感受性変異株を30℃で培養してその基部体を精製し、電子顕微鏡でその形態を観察したが野生株との間に差は見つからなかった。また、これらの基部体は、熱や酸に対して野生株のそれと同じくらい安定であった。このことは、30℃で成育した菌を40℃に移しても、しばらく(1時間位)泳ぎ続けることから予想される。

温度感受性変異株から精製した基部体を SDS ゲルで解析すると、野生株のものと同様に10種類のタンパク質が検出された。ところが、そのうちある1種類のタンパク質のゲル中での移動度が野生株のものとはわずかに異なっていたのである。例えば $fla_S F V$ はフックの構造遺伝子とわかっているが³⁴⁾、その変異株の1つではフックのタンパク質 42 K の移動度だけが遅くなった。同様にして region I の遺伝子 $fla_S F VI$ 、

$fla_S F VII$ 、 $fla_S F IX$ の変異がそれぞれ基部体の構成タンパク質 32 K、30 K、38 K の移動度を変化させることがわかった。また、65 K タンパク質は全く別の領域にある $fla_S A II \cdot I$ 遺伝子に対応付けられた(図3)。

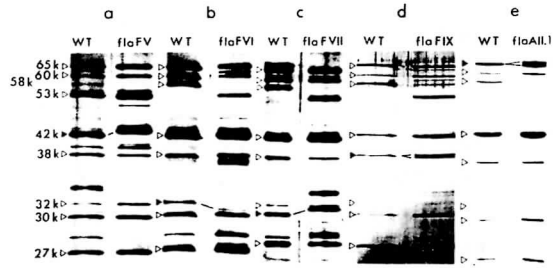


図3 サルモネラ菌の fla^{-S} 変異株から精製した基部体の SDS・ゲルのパターン。

温度感受性株のすべてがこのような変化を示すわけではない。野生株と全然差のないものもある。しかし今まで調べた所、約20%の確率でそのような移動度の異なるものが見つかる。中にはその移動度の変化が小さいために野生株との差が見つけにくいものもあり、その差の検出には泳動条件を厳密にコントロールするなど注意を要する。SDS ゲル中でのタンパク質の移動度は大ざっぱにはその分子量に比例するが、微細に見ると各アミノ酸残基の電荷や部分的二次構造に影響されることが知られている。

以上の知見を総合して、お互いに辻つまがあうかどうかを考慮しつつ整理したのが表1である。これからわかることは、

- (1) 基部体の成分は、ほとんど region I の $fla_S F$ II operon の遺伝子によってコードされている。
- (2) M リングと思われる 65 K タンパク質の遺伝子は、region III の $fla_S A II \cdot 1$ である。
- (3) 基部体の中には、モーターが回転するために必要な mot 遺伝子の産物が全然含まれていない。
- (3) の事実は、基部体がモーターの一部であってその全部ではないということを示している。基部体がモーターの機能を果たすためには、 mot 遺伝子の産物が必須である。筆者らの方法で単離した基部体にはそれが含まれていなかった。では、その mot 遺伝子の産物はどこにあるのだろうか？

Mot A, B 遺伝子

$mot A, B$ 遺伝子の欠失変異株は正常のべん毛や基部体を持っている¹²⁾。 $mot A, B$ 遺伝子はべん毛の

表1 サルモネラ菌のべん毛基体に関する遺伝子-タンパク質-構造の相関図.

分子量	等電点	遺伝子	構造と機能
65 Kd	6.8-7.3*	fla A II. 1	Mリング
60	5.0	fla W	フック. ベん毛繊維結合タンパク質
58	4.8	H 2	フラジェリン 1.2 抗原
53	5.2	H 1	フラジェリン i 抗原
42	4.7	fla FV	フック タンパク質
38	>9*	fla F IX	Pリング
32	4.5	fla FVI	ロッド
30	4.6	fla FVII	ロッド
27	7.5*	fla FVIII	Lリング
16	5.4	?	?
14	5.5	fla F III	?
(12	7.3	?	?)**
?	?	?	Sリング
?	?	fla F IV	ロッド. フック結合タンパク質

* 2次元電気泳動で spot にならず, diffuse する

** いつもではないが, しばしば現われるタンパク質

構造形成に影響しないばかりか, べん毛が完成した後でこの遺伝子産物を加えてもべん毛は回転することができる. 例えば, *mot B* 遺伝子の欠失変異株に, 遺伝子工学のテクニックを使って *mot B* 遺伝子を導入しそれを特異的に発現させると, それまで動かなかったべん毛が徐々に回転を始めるようになる⁷⁾. *mot A* 遺伝子についても同様のことが確かめられた. 以上の事実は, *mot A*, B タンパク質が基体の中ではなく, その周辺に存在することを示唆している.

現在, すでに *mot A*, B 遺伝子の全塩基配列が明らかにされており¹¹⁾, このタンパク質の大量精製も試みられている. しかし, その局在場所に関しては, 細胞膜中にある⁵¹⁾ということ以外には何もわかっていない.

region II にある *mot A*, B は古くから知られており¹⁵⁾, 言わば純正の *mot* 遺伝子であるが, 最近 region III に3つの条件付き *mot* 遺伝子が見つかった.

条件付き *mot* 遺伝子

サルモネラ菌の region III にある *fla_S A II.2* 遺伝子は *che V*, また *fla_S Q* 遺伝子は *che C* 遺伝子とも呼ばれ, その2つの機能からこれらの遺伝子産物はべん毛モーターの一部を形成し正・逆回転を制御するスイッチ・タンパク質であると考えられている^{41), 49)}

最近, 筆者ら⁵⁸⁾ はこれらの遺伝子が *Mot⁻* の表現型も示すこと, さらに *fla_S N* も同様に3種類の表現

表2 多機能遺伝子

Fla ⁻	Mot ⁻	Che ⁻
fla AII 2	mot C	che V
fla N	mot D	che N
fla Q	mot E	che C

型を示すことを発見した(表2).

これらの遺伝子は, 欠失突然変異が生じると基体を含めてべん毛構造が全く形成されないから間違いなく *fla* 遺伝子である. ところが点突然変異の場合には遺伝子内でのその位置によって, べん毛の形成されない Fla⁻, べん毛はできるが回転しない Mot⁻, べん毛が形成され回転するが正回転しかできない Che⁻(CCW), そして逆回転しかできない Che⁻(CW), の4種類の突然変異表現型を生じる. つまり, これら3つの遺伝子は基体の形成に関与し, しかも回転運動に必須であり, また, 正・逆回転の制御にも関与している, いわば多機能遺伝子である. これらの遺伝子は一体どのようにして4つの異なる機能に関与しているのだろうか?

前述のように, 基体の中にはこれら3つの遺伝子の産物は検出されなかった. しかし, これらの遺伝子産物がモーターの構造中にあるという積極的な証拠は MY1 と呼ばれる温度感受性突然変異株の存在にある.¹⁰⁾ この株は *fla_S A II. 2* に変異があり, 40°C で生育するとべん毛は持っているが泳げない. しかし, 30°C

では正常に泳ぐことができる。すなわち、条件付きの Mot⁻ 変異株である。この菌を 30℃ で生育した後いきなり 40℃ に移すと、それまで正常に泳いでいた菌が突然 (1 秒以内) に動かなくなる。もし、それが制御遺伝子ならばタンパク質の発現までに 10 分以上かかるから、この現象を説明することはできない。これは明らかに *fla_SA II.2* がモーターの機能に関与するタンパク質の構造遺伝子であることを示している。

fla_SN や *fla_SQ* の遺伝子産物が *fla_SA II.2* 同様にモーターの構造の一部を形成していることは、その表現型の類似性から推測できるが、以下に述べるタンパク質間相互作用の研究によりさらに強く示唆される。

べん毛モーターの中核部品

Parkinson ら^{49),50)} は、復帰突然変異株の解析により、サルモネラ菌の *fla_SQ*, *fla_SA II.2* に相当する大腸菌の *fla_EA*, *fla_EB* が *cheY*, *cheZ* と相互作用していることを示した。復帰突然変異株とは、ある突然変異株が次に起こった突然変異によって元の機能を完全に回復したものを指すが、その大半は初めの突然変異遺伝子内に二番目の突然変異が起こったものである。しかし、中には別の遺伝子に突然変異が起こって、失われた機能を回復するものもある。後者のような復帰突然変異株を解析すれば、異なる遺伝子間の相互作用がわかる。この方法は間接的ではあるが、異なるタンパク質間の相互作用を調べる有力な方法の一つである。

Parkinson らの方法では、二番目の突然変異遺伝子が初めの突然変異遺伝子から充分離れた所にある時にしか解析できないという欠点があった。筆者ら⁵⁹⁾ は、機能の一部だけが回復した擬似復帰突然変異株を解析すれば互いに隣り合っている遺伝子間の相互作用をも検出できるということを見つけ、この方法を前述の *fla_SN*, *fla_SQ*, *fla_SA II.2* 遺伝子に適用してみた。すなわち、べん毛を持っているのに泳げない Mot⁻ 型から真直ぐにしか泳げない Che⁻ (smooth) 型を、あるいは真直ぐにしか泳げない Che⁻ (smooth) 型からギクシャクとしか泳げない Che⁻ (tumbly) 型を多数単離しその遺伝解析を行なった。その結果、図 4 に示すようにこれら 3 つの遺伝子は互いに相互作用していること、さらに *fla_SN* と *fla_SQ* は *cheZ* と、*fla_SA II.2* は *cheY* とも相互作用していることがわかった。この解析は現在も進行中である。

以上の事を総合すると、これらの遺伝子産物は、それ自身が 3 つの独立した機能を持つのではなく、異な

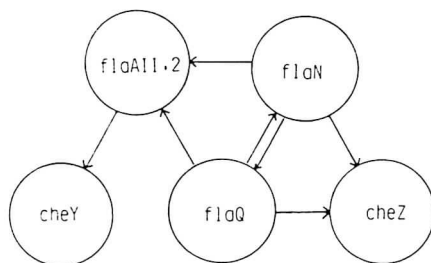


図 4 多機能遺伝子及び *che* 遺伝子の相互作用.

る機能を持つ 3 種類 (*fla*, *mot*, *che*) の遺伝子産物と相互作用をすることにより多機能性を発揮しているらしい。すなわち、多機能遺伝子産物は複合体を形成し、

- (1) べん毛基部体形成に際して重合の核あるいは起点として働く。
- (2) 何らかの形で *mot A*, *B* タンパク質と共同しエネルギー変換器として機能する。
- (3) *cheY*, *cheZ* タンパク質と結合して回転方向を変えるスイッチとしても機能する。

この複合体こそが基部体精製の際に落ちてしまった部品、すなわちべん毛モーターの中心部であるエネルギー変換器兼固定子なのではなかろうか。図 5 は多機能

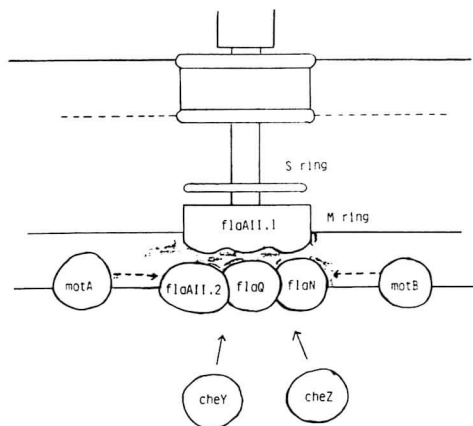


図 5 べん毛モーターの主要構成成分の仮想的配置図.

遺伝子産物と他の *fla*, *mot*, *che* 遺伝子産物との関連を推測した想像図である。Aquaspirillum serpens の内膜の内側にリング状構造体があるという報告もある⁹⁾が、この複合体に相当するものかもしれない。筆者らは遺伝解析の進んだ大腸菌やサルモネラ菌で、そのような構造を検出することを目下計画中である。

べん毛モーター回転の様子

さて、これまでべん毛モーターの構造を中心に述べてきたが、ここでべん毛モーターが実際にはどのように回転しているか見てみよう。べん毛モーターの回転はべん毛の回転を観察して行なわれるが、太さ 20 nm のべん毛を観察するのは容易でない。通常は、べん毛を抗べん毛抗体でスライドガラスに固定し菌体の回転を観察する方法がとられている。従って、回転の測定も厳密な意味で定量的なものはないが次のような事がわかっている。

- (1) なめらかに回転する。
- (2) ゆっくりも回し、早くも回る (1 Hz ~ 100 Hz)。
- (3) 回転のエネルギーが一定の時、回転のトルクは一定である。
- (4) 温度変化は回転に影響しない³⁰⁾。
- (5) 水を D₂O に置換えても回転に変化はない³⁰⁾。

生理的環境下ではべん毛は水素イオンの電気化学的ポテンシャル ($\Delta\mu\text{H}^+$) によって回転している。この電気化学的ポテンシャルは膜電位と水素イオンの濃度勾配 (ΔpH) によるエネルギーの 2 つの和から成っているが、実験的に膜電位が零で ΔpH だけがあるような条件下でもべん毛は回転する^{43), 44)}。このことは、べん毛モーターが $\Delta\mu\text{H}^+$ のエントロピー成分だけでも回転できることを示し、他の生体系では見られないエネルギー変換機構として注目される。この機構を解明すべくいくつかのモデルが提唱されているが^{30), 39), 48)} 回転子や固定子の詳細が不明なため概念的なものに止まっている。

べん毛モーターの変種

これまで述べてきたべん毛モーターは、大腸菌やサルモネラ菌の知見をもとにしたものであるが、最近これらのモーターと性質の異なるモーターを持つ細菌が見つかってきている。

- (1) 好アルカリ性 *Bacillus* では、回転を起こすのは水素イオンではなくて、ナトリウムイオンの流れである^{17), 18)}。
- (2) *Caulobacter* は右巻きらせんのべん毛を 1 本だけをもって、これを時計方向に回して進む。大腸菌では左巻きのべん毛を反時計回りに回して前進するから、*Caulobacter* のモーターの回転方向は大腸菌と反対である³⁵⁾。
- (3) *Rhodospseudomonas sphaeroides* には、べん毛が菌体の横っ腹に 1 本だけ生えている。このべん

毛は一方向だけにしか回転しない。そして、べん毛が回転しない瞬間もある。大腸菌のそれが正転か逆転かどちらかにいつも回転して止まることがないのと比較すると、この細菌のモーターは逆転の機構をもっていないのだろう⁴⁾。

- (4) *Halobacterium* は、数十本のべん毛が極にかたままって生えている。個々のべん毛は回転しないが、べん毛の束が一かたまりになって回転するという³⁾。べん毛の束の根元に大きな回転板のようなものがあるのかもしれない。もしそうならば、これは大腸菌等のべん毛モーターとは全く別の物であろう。

以上のような、従来のものとは性質を異にするべん毛モーターの研究が進めば、大腸菌やサルモネラ菌では得られないような情報が期待できるであろう。

べん毛研究の行方

べん毛モーターには酵素活性がないだけに、物理学者にも生物につきものの些細な現象論にまどわされることなく問題に立ち向かうことができる。その問題は極めて純粹であって「水素イオンの統計的な流れをどのようにして回転という古典力学的な運動に変換することができるのか?」ということである。現在、次々とモデルの抽象化が進み、もはやその対象はべん毛モーターである必要さなくなりつつある。そこには、熱的ゆらぎをエントロピー的の力によって意味のある運動に変換するといったマクスウェルの悪魔まがいのものまで出現している。また、欧米流の機械論的“Tight Coupling”説が主流を占める中で、ルーズきこそ生物機械の本質であるとする Oosawa^{47), 48)} の“Loose Coupling”説が、生物のエネルギー変換一般に関して新たな問題を提起している。これらの抽象論は極めて魅力的であり、その示唆するところも大きい。そして、それをより具体的にするために、生理学及び遺伝学から得られたべん毛モーター像を、実際のべん毛モーターの構造とどのように対応付けていくのが当面の課題であろう。

ここでは、紙面の制約上省略したが、べん毛モーターにはタンパク質の運搬機構も備わっている。フラジエリンやフックタンパク質を始めいくつかの種類のタンパク質が、このべん毛モーターを通して菌体外に運ばれており^{21), 25)}、その制御機構も少しずつ解明されつつある。また、べん毛基部体の形態形成は大変複雑な過程であるが、フックとべん毛繊維の間には「糊」の役割をしているタンパク質が見つかり²⁰⁾ 高次構造体の形成の秘密が徐々に解き明かされている。べん毛

モーターの魅力が少しでも読者の心に止まるよう祈って筆を置く。

最後になりましたが...

鈴木裕子, 御手洗薫の両嬢にはタイプ, 図表作成を手伝って頂きました。また, 以下の方々には原稿を批判して頂きました。ありがとうございました。(敬称略)

今栄康雄, 秋浜良三, 宮本宏, 梅村鎮男, 沓掛和弘, 豊玉英樹, 芦川育夫, 岡本庸一, 古谷野有。

本稿で紹介した筆者らの研究は Yale 大学の Macnab 教授との共同によるものである。

文 献

- 1) Adler, J. (1966) *Science*, **153**, 708-716.
- 2) Aizawa, S. -I., Dean, G. E., Jones, C. J., Macnab, R. M., Yamaguchi, S. (1985) *J. Bacteriol.*, **161**, 836-849.
- 3) Alam, M., Oesterheld, D. (1984) *J. Mol. Biol.*, **176**, 459-475.
- 4) Armitage, J. P. (1985) The 13th Aharon Katzir-Katchalsky Conf.
- 5) Asakura, S. (1970) *Adv. Biophys.*, **1**, 99-155.
- 6) Berg, H. C. (1974) *Nature*, **249**, 77-79.
- 7) Block, S. M., Berg, H. C. (1984) *Nature*, **309**, 470-472.
- 8) Clegg, D. O., Koshland, D. E., Jr (1984) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **81**, 5056-5060.
- 9) Coulton, J. W., Murray, R. G. E. (1978) *J. Bacteriol.*, **136**, 1037-1049.
- 10) Dean, G. E., Aizawa, S. -I., Macnab, R. M. (1983) *J. Bacteriol.*, **154**, 84-91.
- 11) Dean, G. E., Macnab, R. M., Stader, J., Matsumura, P., Burks, C. (1984) *J. Bacteriol.*, **159**, 991-999.
- 12) DePamphilis, M. L., Adler, J. (1971) *J. Bacteriol.*, **105**, 376-383.
- 13) DePamphilis, M. L., Adler, J. (1971) *J. Bacteriol.*, **105**, 384-395.
- 14) DePamphilis, M. L., Adler, J. (1971) *J. Bacteriol.*, **105**, 396-407.
- 15) Enomoto, M. (1966) *Genetics*, **54**, 715-726.
- 16) Hilmen, M., Silverman, M., Simon, M. (1974) *J. Supramol. Struct.*, **2**, 360-371.
- 17) Hirota, N., Imae, Y. (1983) *J. Biol. Chem.*, **258**, 10577-10581.
- 18) Hirota, N., Kitada, M., Imae, Y. (1981) *FEBS Lett.*, **132**, 278-280.
- 19) Hoeniger, J. F. M., van Iterson, W., van Zanten, E. N. (1966) *J. Cell. Biol.*, **31**, 603-618.
- 20) Homma, M., Fujita, H., Yamaguchi, S., Iino, T. (1984) *J. Bacteriol.*, **159**, 1056-1059.
- 21) Homma, M., Iino, T. (1985) *J. Bacteriol.*, **162**, 183-189.
- 22) Hotani, H. (1976) *J. Mol. Biol.*, **106**, 151-166.
- 23) Houwink, A. L., van Iterson, W. (1950) *Biochem. Biophys. Acta.*, **5**, 10-44.
- 24) Iino, T. (1977) *Annu. Rev. Genet.*, **11**, 161-182.
- 25) Ikeda, T., Kamiya, R., Yamaguchi, S. (1984) *J. Bacteriol.*, **159**, 787-789.
- 26) 今栄康雄, 水野敬文 (1985) 生物物理, **25**, 235-244.
- 27) Johnson, R. C., Walsh, M. P., Ely, B., Shapiro, L. (1979) *J. Bacteriol.*, **138**, 984-989.
- 28) Kamiya, R., Asakura, S. (1976) *J. Mol. Biol.*, **106**, 167-186.
- 29) 神谷律 (1978) 生物物理, **18**, 63-67.
- 30) Khan, S., Berg, H. C. (1983) *Cell*, **32**, 913-919.
- 31) Khan, S., Macnab, R. M. (1980) *J. Mol. Biol.*, **138**, 599-614.
- 32) Komeda, Y. (1982) *J. Bacteriol.*, **150**, 16-26.
- 33) Komeda, Y., Silverman, M., Simon, M. (1978) *J. Bacteriol.*, **133**, 364-371.
- 34) Komeda, Y., Silverman, M., Matsumura, P., Simon, M. (1978) *J. Bacteriol.*, **134**, 655-667.
- 35) Koyasu, S., Shirakihara, Y. (1984) *J. Mol. Biol.*, **173**, 125-130.
- 36) Kutsukake, K., Iino, T., Komeda, Y., Yamaguchi, S. (1980) *Mol. Gen. Genet.*, **178**, 59-67.
- 37) Laemmli, U. K. (1970) *Nature*, **227**, 680-685.
- 38) Larsen, S. H., Adler, J., Gargus, J. J., Hogg, R. W. (1974) *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, **71**, 1239-1243.
- 39) Läuger, P. (1977) *Nature*, **268**, 360-362.
- 40) Macnab, R. M. (1976) *J. Clin. Microbiol.*, **4**, 258-265.
- 41) Macnab, R. M., Aizawa, S. -I. (1984) *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.*, **13**, 51-83.
- 42) Macnab, R. M., Koshland, D. E., Jr (1974) *J. Mol. Biol.*, **84**, 399-406.
- 43) Manson, M. D., Tedesco, P., Berg, H. C., Harold, F. M., van der Drift, C. (1977) *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, **74**, 3060-3064.
- 44) Matsuura, S., Shioi, J. -I., Imae, Y. (1977) *FEBS Lett.*, **82**, 187-190.
- 45) Matsuura, S., Shioi, J. -I., Imae, Y., Iida, S. (1979) *J. Bacteriol.*, **140**, 28-36.
- 46) O'Farrell, P. H. (1975) *J. Biol. Chem.*, **250**, 4007-4021.
- 47) 大沢文夫 (1983) 蛋白質 核酸 酵素, **28**, 613-623.
- 48) Oosawa, F., Masai, J. (1982) *J. Phy. Soc. Japan*,

- 51, 631-641.
- 49) Parkinson, J. S., Parker, S. R. (1979) *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, **76**, 2390-2394.
- 50) Parkinson, J. S., Parker, S. R., Talbert, P. B., Houts, S. E. (1983) *J. Bacteriol.*, **155**, 265-274.
- 51) Ridgway, H. F., Silverman, M., Simon, M. I. (1977) *J. Bacteriol.*, **132**, 657-665.
- 52) Segall, J. E., Ishihara, A., Berg, H. C. (1985) *J. Bacteriol.*, **161**, 51-59.
- 53) Silverman, M., Simon, M. (1974) *Nature*, **249**, 73-74.
- 54) 鈴木孝仁 (1978) *生物物理*, **18**, 58-62.
- 55) Suzuki, T., Iino, T., Horiguchi, T., Yamaguchi, S. (1978) *J. Bacteriol.*, **133**, 904-915.
- 56) Suzuki, T., Komeda, Y. (1981) *J. Bacteriol.*, **145**, 1036-1041.
- 57) Yamaguchi, S., Fujita, H., Taira, T., Kutsukake, K., M. Homma, T. Iino (1984) *J. Gen. Microbiol.*, **130**, 3339-3342.
- 58) Yamaguchi, S., Fujita, H., Aizawa, S. -I., Macnab, R. M., Ishihara, A. (1986) *J. Bacteriol.*, **166**, in press.
- 59) 山口滋 他 (1985) 日本遺伝学会第57回大会報告.

ABSTRACT

A New Turn of Flagellar Motor

Shin-ichi AIZAWA

Research Development Corporation of Japan

Shigeru YAMAGUCHI

Department of Biology, School of Education, Waseda University

Flagellar motor of bacteria is a rotary apparatus driven by protonmotive force. Flagellar basal body has been believed to be the major part of the motor, because it is the only structure detectable at the proximal end of the flagellum.

We developed a new method for the purification of the basal body and analysed the components by SDS-PAGE. The results showed the absence of *mot* gene products in the structure, suggesting that the functional part of the motor was lost during the purification of the basal body.

Three flagellar genes of *Salmonella* (*flaQ*, *flaN* and *flaAII.2*) were found to be multifunctional, each giving rise to three distinct mutant phenotypes (Fla^- , Mot^- and Che^-). The phenotypical diversity of these genes implies the participation of the gene products in flagellar assembly, motor rotation and control of the sense of rotation.

Genetic analysis of pseudorevertants from Mot^- or Che^- mutants of the multifunctional genes revealed the interaction among the three genes, suggesting that these gene products make a complex.

We present a new image of the motor, where a complex of the multifunctional gene products sits beneath the basal body as the stator of motor and has interaction with *motA*, B proteins and *cheY*, Z proteins.

あいざわ しんいち



昭和24年広島県生まれ。昭和49年東北大学物理科卒業。名古屋大学分子生物学研究施設で6年間の大学院生活。エール大学で約4年半のポスドク生活の後、昭和60年元日付で現職。趣味一名古屋時代の麻雀、パチンコがアメリカではゴルフと映画にとってかわった。筑波にやってきて、それが俳句と書道になった。

☎029747-8909 or 8822

やまぐち しげる



昭和30年東京教育大生物学科卒業。高校教員を7年間勤めた後、大学院に進学。41年に研究生として国立遺伝研微生物遺伝部(当時飯野徹雄部長)に付き、そこで初めて細菌のべん毛に出会う。以来20年間べん毛と付き合っている。我ながら長い付き合いと思うが、次々に面白い現象が見つかって来るので、当分離れられそうにもない。

☎(03)203-4141 内線3855

次号予定内容

(Vol. 26 No. 3/通巻145号)

随想	職人一人一人達人	廣海 啓太郎
総説	胚形成と細胞運動	中辻 憲夫
	——特に両生類の原腸形成運動	
	筋収縮のエネルギー過程	山田 武範
	免疫応答の初期過程	中西 守
実験技術	生物の成長と電氣的散逸構造	{ 都 甲 潔 山 藤 馨
	活動電位の光学的測定	{ 神 野 耕太郎 広 田 秋彦 酒 井 哲郎
	小室 仁	
図書室	古い雑誌の思い出	和 田 昭 允