

# 原子構造が明らかにする超分子ナノマシン —細菌べん毛—の動作機構



今田 勝巳\*

Molecular mechanisms of a biological macromolecular nanomachine  
—the bacterial flagellum— based on the atomic structure

Key Words : bacterial flagellum, biological nanomachine, structural biology

## 1. はじめに

細菌の多くはべん毛と呼ばれるらせん型繊維をスクリュープロペラとして回転させて、数十 $\mu\text{m}$ /秒の速度で活発に泳ぎ回る。その典型的な運動パターンは、2~3秒間の直線的泳ぎと0.1秒ほどの方向変換の繰り返しである。遊泳に伴う環境変化を細胞膜上のセンサーが検出し、方向変換頻度を制御することで、より好ましい環境へ移動する走性行動を示す。体長僅か1~2 $\mu\text{m}$ の単細胞生物でも、様々なセンサーや信号伝達処理システム、運動器官と制御系を持ち、環境変化を捉えて生き延びるための複雑なシステムを有している。その機能を担うのは、超分子とも分子機械とも呼ばれる、主に蛋白質から成る生体高分子集合体である。生物の分子機械の特徴は、熱揺らぎの影響を受けながらも原子レベルの高精度を保ち、しなやかに動作する点にある。この性質は構成部品である蛋白質分子が原子レベルの高精度で組上がる一方で、大きなゆらぎを許す構造を持つことに起因する。従って、各蛋白質分子の原子レベルでの構造と、それらがどのように組合って分子機械ができ上がるかを知ることが、生物の分子機械の動作原理を理解する上で欠かせない。我々の研究対象である細菌べん毛は、最も複雑な分子機械のひとつであり、

高速回転モーター、方向可変スクリューなど、各部分の働きも分子機械と呼ぶにふさわしい機能を備えている。最近、我々は電子顕微鏡法とX線回折法を組み合わせることで、べん毛繊維の構造の詳細を明らかにした。ここでは、べん毛繊維の構造と、それに基づく計算機シミュレーションから明らかになった方向可変スクリューのしくみを取りあげ、超分子ナノマシンの動作機構の一端を紹介する。

## 2. 細菌べん毛

サルモネラ菌のべん毛は、26種類のタンパク質がそれぞれ数個から数万個、自己集合してできた超分子機械である。細胞内膜部分には直径30nm程の回転子(Rotor)とプロトンチャンネルを構成する固定子(Stator)がある。回転子の下部には反転制御スイッチの機能を持つCリング構造体が細胞質側に突き出している。外膜とペプチドグリカン層には、LPリングと呼ばれる軸受けがあり、モーターの回転はその中央を貫くロッドにより菌体外部のフックへと伝えられる。フックは、大きく曲がった長さ約55nmの繊維状構造体である。捻れに対しては硬いが曲げに対して非常に柔軟で、回転トルクをあらゆる方向に伝える自在継ぎ手の役割をする。フックの先にはスクリューとして働く、直径20nm長さ十数 $\mu\text{m}$ のらせん繊維が伸びている。べん毛繊維のらせん構造はピッチ約2.3 $\mu\text{m}$ の左巻である。直進時は数本のべん毛繊維が束になり、同期して回転し推力を発生する。方向変換時にはモーターの急反転トルクが引き金となり、らせんが瞬時に右巻きに変わり、束がはぐれて推力バランスが崩れ、その結果菌体が方向変換する。<sup>1)</sup> このように、べん毛繊維はただの硬いスクリューではなく、ダイナミックな形態スイッチ機構を備えた構造体である。



\* Katsumi IMADA  
1964年12月生  
1992年大阪大学大学院・理学研究科・  
高分子学専攻博士課程修了  
現在、大阪大学・大学院生命機能研究  
科・ナノ生体科学講座、助教授、博士  
(理学)、生物物理学  
TEL 06-6879-4625  
FAX 06-6879-4652  
E-Mail kimada@fbs.osaka-u.ac.jp

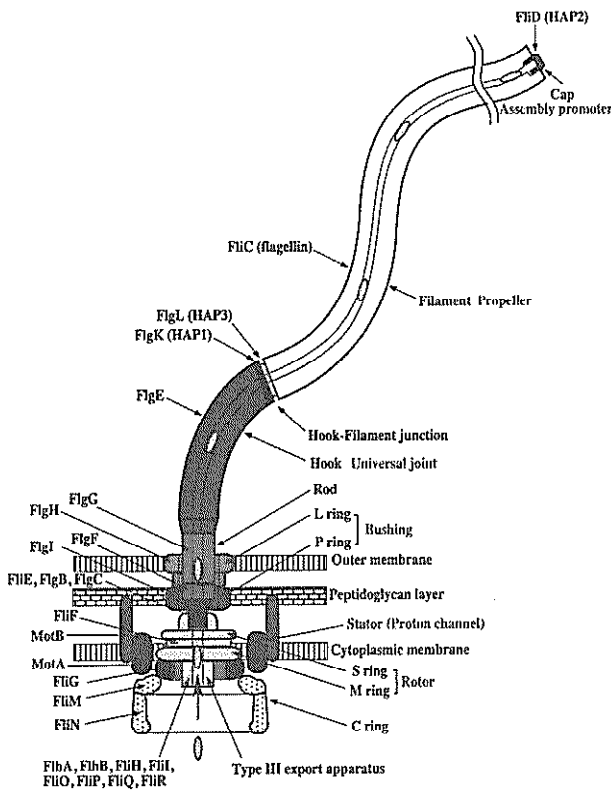


図1 細菌べん毛の模式図。各部の名前は、左側が蛋白質名、右側が構造体名、グレーの文字は構造体の機能名を示す。

### 3. べん毛繊維のらせん形態

サルモネラ菌のべん毛繊維は、分子量51.5kDaの蛋白質フラジェリンがらせん状に重合したものである。繊維中で各フラジェリン分子は、1重らせんに沿って2巻きにはぼ11個のサブユニットが並んでいるが、見方を変えると11本の素繊維が束になった並び方をしてい。べん毛繊維の芯は2重円筒構造を作っていて、中心を直径30Åのチャンネルが貫通している。フラジェリンは動径方向に並ぶ4つのドメインから構成されていて、内側から順にD0, D1, D2, D3と呼ぶ。ドメインD0は2重円筒の内筒をD1は外筒を形成している。

べん毛繊維は、ただ1種類の蛋白質フラジェリンで構築されるにも関わらず、いわゆる超らせん構造を形成する。しかもその形態が、モータ反転のねじれ力で左巻きから右巻きに瞬時に変換する。<sup>1)</sup> そのしくみについて、朝倉は素繊維2状態モデルを提案した。<sup>2)</sup> 11本の素繊維が全て同じ周期構造なら真直ぐのチューブ構造しか作り得ない。しかし、繊維

が周期長と素繊維間結合位置の異なる2種類の構造をとり、それらがチューブ構造に混在すれば、周期長の差が曲率を、素繊維間結合位置の差がチューブ軸に対する素繊維方向の変化となってねじれを生じ、超らせんを形成することができる。また2種類の構造の本数が変化すれば、超らせん形態は様々に変わり得る。このモデルから、らせん対称性と素繊維周期長の異なる2種類の直線型べん毛繊維の存在が予測され、実際に2種類見つけた。<sup>3)</sup> 我々はフラジェリンのアミノ酸1個の変異によって直線構造を安定に形成する2種類の変異株、L型(素繊維が左Leftに傾斜)およびR型(右Rightに傾斜)のX線繊維回折測定を行い、層線位置から素繊維に沿った周期長を正確に求めたところ、L型は52.7Å、R型は51.9Åであった。この結果に基づき、両者を混在させて様々ならせん形態をシミュレートし、実測の超らせん形態と比較したところ見事に一致し、朝倉モデルの正しさが実証された(図2)。わずか0.8Åという原子1個より小さな周期長差により、べん毛繊維の緩やかな曲率が作られていた。<sup>4)</sup> つまり、べん毛素繊維の長さ方向の機械的スイッチの精度は、実に0.1Åレベルなのである。

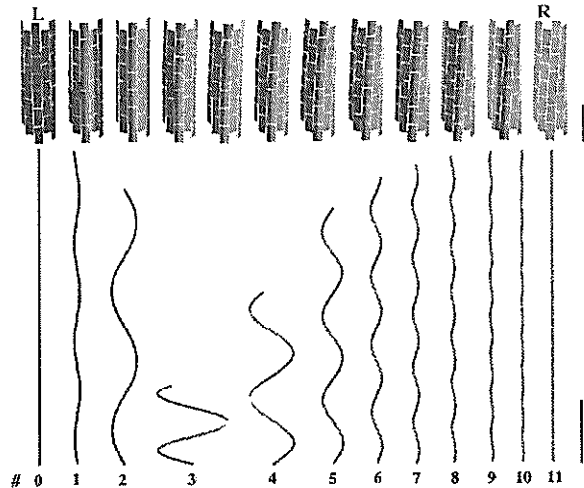


図2 実測値に基づいた超らせん形態シミュレーション。数字はR型の素繊維の本数を示す。R型素繊維の本数が2本から4本に変わると超らせん形態は左巻きから右巻きへ変わる。

### 4. べん毛繊維の構造と形態変換スイッチ

原子サイズのスイッチ機構を解明するには、原子レベルの分解能で構造を見ることが必須である。ド

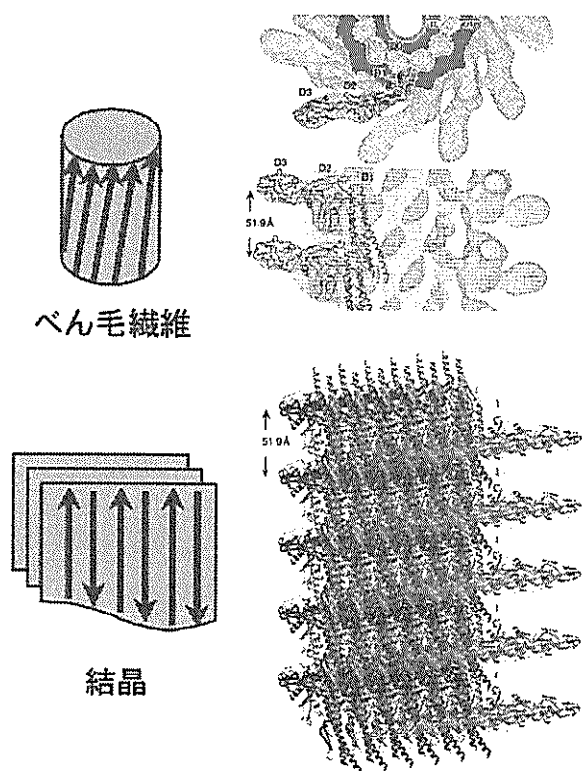


図3 繊維密度分布図に重ねた素繊維モデルと結晶内での分子配列。右上は横断面、右中は縦断面(いずれも50Å厚)の繊維密度分布図に合わせ込んだ素繊維モデル。矢印は素繊維の並びの方向を示す。右下は結晶中での分子の並び。

メインD0を削ったフラジェリン41kDaフラグメント(F41)の結晶構造と極低温電子顕微鏡像解析で得られた繊維全体の像からそのしくみがみえてきた。

F41分子は3つのドメインからなる。N末端とC末端を含むドメインD1は、3本の $\alpha$ ヘリックスと1本の $\beta$ ヘアピンから成り、残りのドメインD2とD3は殆ど $\beta$ 構造である。幸運なことに、F41は素繊維構造を含む形で結晶化していた。べん毛繊維を形成する際には平行に並んだ11本の素繊維が束になるが、結晶中では反平行に繰り返し並んでシートを形成し、そのシートが積層して単結晶に成長していた。おかげで素繊維間の相互作用部位が全て明らかになり、素繊維の周期構造をスイッチするしくみについてもその手がかりが得られた。<sup>5)</sup> べん毛らせん型変異株フラジェリンのアミノ酸変位の位置についても、いくつかは素繊維軸に沿った分子間相互作用との関わりが明らかになった。

べん毛繊維中でのわずかなねじれを除けば、結晶中の分子配列はR型、つまり周期長が短い素繊維構

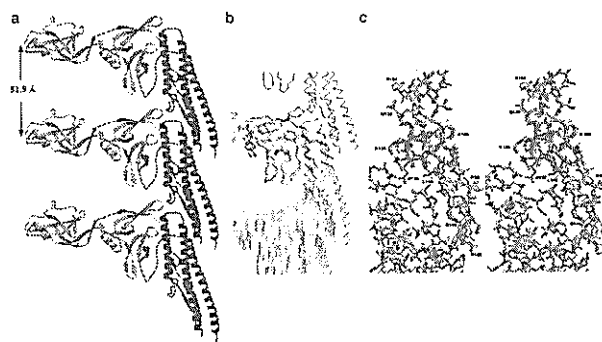


図4 素繊維モデルの伸張シミュレーション結果。(a) 3分子の素繊維モデル。(b) 下の分子の移動距離0.5Åおきに、C $\alpha$ 骨格を表示した。中間分子のドメインD1の $\beta$ ヘアピンのみが、ある時点でジャンプする。(c) 伸張距離4.5Åと4.7Åでの構造を、 $\beta$ ヘアピン周辺を拡大して重ね書きしたもの。

造そのものであった。そこで、素繊維の周期構造を切り替える機構を構造中に探すため、R型素繊維モデルを伸張する計算機シミュレーションを行った。3分子からなる素繊維モデルを設定し、下の分子のみ0.1Åずつ下方へずらし、そのたびにエネルギー最小化を行い、中間に位置する分子に起こる構造変化を調べた。<sup>5)</sup> 下の分子の移動距離が4.5Åまでは、中間の分子の構造はゆっくりと一様に伸びるだけであった。しかし、4.5Åから4.7Åへ進んだわずか0.2Åの間に、中間分子のドメインD1の $\beta$ ヘアピンが斜め下方へジャンプした。この $\beta$ ヘアピンは、アミノ酸配列上その手前にある2つの連続した $\beta$ ターンとともに、素繊維軸方向の分子間相互作用に直接関わっている。この部分をわずかにスイッチすることで素繊維の周期構造を切り替えるしくみになっていると考えられる。べん毛素繊維構造では、0.8Åというわずかな周期長変化を高精度で実現するスイッチが、疎水性コアを形成し安定で固い構造と考えられるドメイン内部の小さな構造変化として見つかった。これが変化できる理由は、ドメインD1の疎水性コア内の側鎖間相互作用に一ヶ所見られる大きな隙間によるらしい。この構造設計により、このドメインはひとかたまりの剛体として挙動せず、力学的スイッチ機能を持つと考えられる。

### 5. おわりに

朝倉モデルによると、らせん形態変換には、素繊維の周期長スイッチとねじれを生み出す素繊維間結

合位置の差に基づくスイッチが同期する必要がある。最近、米倉らが極低温電子顕微鏡法によりR型べん毛繊維全体の構造解析に成功し、素繊維間の相互作用が明らかになった。<sup>6)</sup> 同様にL型べん毛繊維の解析も進行中であり、両者の比較から素繊維間結合位置の差が明らかになるであろう。らせん形態変換の高精度スイッチ機構の全容を原子レベルで説明できる日は、もうすぐそこまで来ている。

#### 参 考 文 献

- 1) Macnab, R.M. and Ornston, M.K. : *J. Mol. Biol.*, 112, 1(1977)
- 2) Asakura, S. : *Adv. Biophys.*, 1, 99(1970)
- 3) Kamiya, R., Asakura, S., Wakabayashi, K. and Namba, K. *J. Mol. Biol.*, 131, 725 (1979)
- 4) Yamashita, I., Hasegawa, K., Suzuki, H., Vonderviszt, F., Mimori-Kiyosue, Y. and Namba, K. *Nature Struct. Biol.*, 5, 125(1998)
- 5) Samatey, F.A., Imada, K., Nagashima, S., Kumasaka, T., Yamamoto, M., Vonderviszt, F. and Namba, K. *Nature* 410, 331(2001)
- 6) Yonekura, K., Maki-Yonekura, S. and Namba, K. *Nature* 424, 643(2003)

この記事をお読みになり、著者の研究室の訪問見学をご希望の方は、当協会事務局へご連絡ください。事務局で著者と日程を調整して、おしらせいたします。

申し込み期限：本誌発行から2か月後の月末日

申し込み先：生産技術振興協会 tel 06-6395-4895 E-mail [seisan@maple.ocn.ne.jp](mailto:seisan@maple.ocn.ne.jp)

必 要 事 項：お名前、ご所属、希望日時(選択の幅をもたせてください)、複数人の場合は  
それぞれのお名前、ご所属、代表者の連絡先

著者の都合でご希望に沿えない場合もありますので、予めご了承ください。