

トピックス  
新進気鋭  
シリーズ

第47回 日本生物物理学会年会 若手招待講演

バクテリア・べん毛モーターが高圧力下で  
逆向きに回り出す!?

西山雅祥 京都大学白眉センター / 物質-細胞統合システム拠点

## 1. はじめに

大腸菌は、細胞外に伸張させたべん毛を利用して、水溶液中を泳いでいる。べん毛繊維の根本にはべん毛モーターと呼ばれる回転器官があり、細胞外から流入するイオン流を利用してトルクを発生し、繊維全体を高速回転させている<sup>1),2)</sup>。べん毛モーターが、反時計 (CCW) 方向に回転すると、菌体は直線的な遊泳運動を行い、時計 (CW) 方向に回ると一時的に泳ぎを停止し、細胞の向きをかえる。こうして、菌体は、モーターの回転方向を切り替えることで、より生育に適した環境へと移動している。

モーターの回転方向を切り替えているのが、応答制御因子 CheY である。菌体は栄養分や温度などの環境変化を感知すると、シグナル伝達過程を経て CheY がリン酸化され、細胞内の濃度が上昇する。このリン酸化型 CheY がモーターに一定数結合すると、回転方向が一気に切り替わるのだが<sup>3)</sup>、その詳細な反転機構は謎のままである。というののも、トルク発生や方向転換にかかわる部位の構造については未だ論争中であり<sup>4)</sup>、また、機能解析の面からみても、生きた細胞内にあるリン酸化型 CheY の発現量を精密に制御することは技術的に難しいからである。本稿では、高圧力技術を用いて、モーターの回転方向をコントロールできる新しい分析手法について紹介する。

## 2. 高圧力顕微鏡

細胞内にある多くのタンパク質は水分子に取り囲まれており、水和により複雑な立体構造形成や酵素活性を生み出している。筆者らは、高圧力をかけることで両者の相互作用が変化することに着目し、その構造変化と機能変調を高解像度で観察できる顕微鏡を開発してきた<sup>5)-7)</sup>。高圧力チャンバーに実験サンプルを封入し (図 1a)、ハンドポンプを用いて、文字通り“手動”で圧力を増加させる簡単な仕様となっている (図 1b)。

装置の耐圧性能は 150 MPa であり、地球上で最も深い場所である太平洋のマリアナ海溝チャレンジャー海淵最深部 (10,924 m, 海上保安庁観測船による測定値) の静水圧 ~110 MPa よりも高い値となる。筆者らは、この高圧力顕微鏡を用いて、高解像度の光学顕微鏡観察を行った。

## 3. べん毛モーターの回転計測

高圧力下で大腸菌・べん毛モーターの回転運動を測定するため、チャンバーの観測窓にべん毛繊維を吸着させ、モーターの回転運動を細胞本体の回転として観察するテザードセルの実験を行った<sup>6)-8)</sup>。

筆者らは、応答制御因子 CheY を欠失させた株を用いて実験したところ、常温常圧 (20°C, 0.1 MPa) 下にあるモーターは CCW 方向に滑らかに回転した (図 1c)。圧力を増加させながら、同じモーターの運動能を追跡したところ、回転運動を持続するモーターの割合、および、その速度の低下がみられた。このまま圧力を上げていくと、やがてすべてのモーターは停止するだろうと予想していたのだが、意外な展開が待っていた。圧力値が 120 MPa に達した際、あるモーターが CW 方向に回転しはじめたのである<sup>7),8)</sup> (図 1d)! さらに、この逆回転 (CW 状態) 以外にも、同じ方向に回り続ける (CCW 状態)、モーターが回転方向を頻繁に変更する (Fluctuation 状態)、回転を停止してしまう (Stop 状態) 現象が観察された (Supplementary Movie 参照)。圧力を再び 0.1 MPa まで下げたところ、約半数のモーターが再び CCW 方向に回転しはじめたが、残りのモーターは停止したままであった。

こうした回転状態の変化を定量的に評価するため、圧力に対して可逆的に応答したモーターを選択し、各圧力において 4 つの回転状態の割合を求めた (図 1e)。0.1 MPa では、すべてのモーターが CCW 状態にあったのに対して、圧力の増加と共に CCW の割合は低下し、代わって Fluctuation, CW, Stop の割合が増加し

High Hydrostatic Pressure Induces Reversal Rotations of the Bacterial Flagellar Motor!?

Masayoshi NISHIYAMA

The Hakubi Center for Advanced Research / Institute for Integrated Cell-Material Sciences, Kyoto University

※図 1 は、電子ジャーナル (<https://www.jstage.jst.go.jp/browse/biophys/-char/ja/>) ではカラー版を掲載しています。

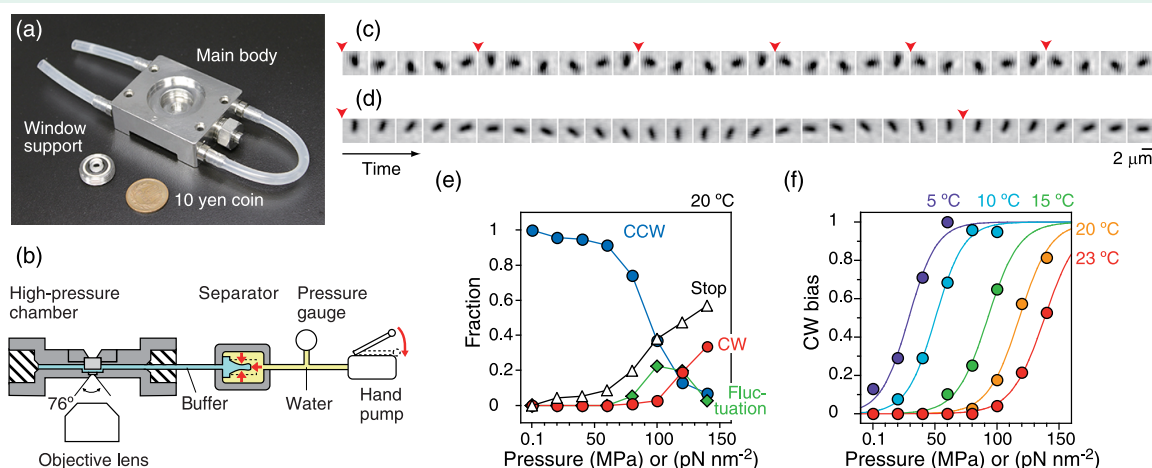


図 1

高圧力下でのべん毛モーターの回転計測（文献 8 の図を改変して掲載）。（a）高圧力チャンバーの写真。（b）高圧力顕微鏡の概念図。（c & d）回転するテザードセルの位相差像（33 ms 間隔）。同じ細胞を常圧力（0.1 MPa, c）と高圧力下（120 MPa, d）で観察した（1 回転ごとに▼を表記）。（e）高圧力下で観察された 4 種類の回転状態（CCW, Fluctuation, CW, Stop）の割合。（f）モーターが CW 方向に回転する確率（CW bias）。CCW と CW 状態が平衡関係にあると仮定すると、CW bias の 0.1 から 0.9 への変化は、 $4.4 k_B T$  の自由エネルギー変化に相当する。

てきた。次に、Stop を除いて、モーターが CW 方向に回転する確率（CW bias）を計算した（図 1f）。20°C では、80 MPa まで加圧しても、CW bias はほぼ変化しなかったのに対して、100 MPa 以上では急峻な立ち上がりを見せた。次に、低温条件下で同様の実験を行ったところ、CW bias は、より低い圧力で大きく変化した。これは、高圧力と低温は相補的に CW bias の増加に寄与することを意味し、熱力学的にもつじつまはあう。また、-2°C まで温度を下げるとモーターが逆に回る報告例とも一致する<sup>9)</sup>。

さらに、各温度で CW bias は圧力の増加と共にシグモイド状の立ち上がりを見せた（図 1f）。この圧力に対する CW bias の応答は、細胞内にあるリン酸化型 CheY の濃度増加時の結果ともよく似ている<sup>3)</sup>。高圧力をかけることで、あたかもリン酸化型 CheY が結合したかのようにモーターの構造が変化したのではないかと考えられる。

#### 4. | おわりに

細胞内に含まれる物質のうち、約 70% は水分子である。本稿では、生きた細胞内にある水分子をそのまま利用して、細胞機能をダイナミックに変化させる手法について紹介してきた。この高圧力顕微鏡法を使えば、顕微鏡下で“見えない”存在である、いわば“黒子”とも言える水分子を操り、生命活動のメインステージにたつ役者たちを裏から操ることができるようになる<sup>7)</sup>。細胞に力学刺激を与えるとシグナル伝達過程やタンパク質の発現レベルなどが変化することが知

られている。今後もメカノバイオロジーの新潮流として発展させていきたい。

#### 謝 辞

本研究は、曾和義幸博士、木村佳文教授、本間道夫教授、石島秋彦教授、寺嶋正秀教授との共同研究です。筆者が変性してしまわない程度に励ましの圧力をかけ続けてくださいました皆様にお礼申し上げます。

#### 文 献

- 1) 相沢慎一 (1998) バクテリアのべん毛モーター、共立出版、東京。
- 2) Berg, H. C. (2003) *E. coli in Motion*, Springer.
- 3) Cluzel, P. *et al.* (2000) *Science* **287**, 1652-1655.
- 4) 今田勝巳, 南野 徹 (2012) *化学* **67**, 37-41.
- 5) 西山雅祥, 木村佳文 (2013) *LTM センター誌* **22**, 18-27.
- 6) Nishiyama, M., Sowa, Y. (2012) *Biophys. J.* **102**, 1872-1880.
- 7) 西山雅祥, 曾和義幸 (2013) *化学* **68**, 33-38.
- 8) Nishiyama, M. *et al.* (2013) *J. Bacteriol.* **195**, 1809-1814.
- 9) Turner, L. *et al.* (1996) *Biophys. J.* **71**, 2227-2233.



西山雅祥

#### 西山雅祥（にしやま まさよし）

京都大学白眉センター特定准教授  
2001 年大阪大学大学院基礎工学研究科博士後期課程修了。02-11 年京都大学大学院理学研究科助教。12 年より現職。  
研究内容: タンパク質分子機械の力学変調と高分解能イメージング  
連絡先: 〒 606-8501 京都市左京区吉田本町  
京都大学 iCeMS 研究棟  
E-mail: mnishiyama@icems.kyoto-u.ac.jp  
URL: <http://www.harada.icems.kyoto-u.ac.jp>