

Title	極低温電子顕微鏡による直線型べん毛フィラメントの3次元像再構成
Author(s)	三森, 優子
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/39164">https://hdl.handle.net/11094/39164</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	三 森 優 子
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 11930 号
学位授与年月日	平成7年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 基礎工学研究科物理系専攻
学位論文名	極低温電子顕微鏡による直線型べん毛フィラメントの3次元像再構成
論文審査委員	(主査) 教授 柳田 敏雄
	(副査) 教授 葛西 道生    教授 村上富士夫    教授 永井 玲子 助教授 若林 克三

### 論文内容の要旨

バクテリアのべん毛フィラメントは、単一の蛋白質、フラジェリンが2つの異なるコンフォメーションをとって規則的に配列することでらせん型フィラメントを構築し、環境の変化に対応してらせんの形を変える、多型変換能を持つ。多型変換の分子メカニズムを解明するために、らせん型フィラメントに混在するコンフォメーションの一方のみをとると考えられる、R型とL型の直線型フィラメントの構造を解析した。また、フラジェリンのアミノ酸配列の中央部分の89アミノ酸残基が欠損したS J W46のフィラメントはらせん型であるが、物理的な力に弱く、中性pHでも多型変換を起こす。そこで、この部位の構造的役割を明らかにするために、S J W46の点変異株であるS J W557(L型)の直線型フィラメントの構造を解析した。さらに酵素分解によりフラジェリンのN末端やC末端の異なる長さのアミノ酸残基を除去し再構成したフィラメントについても構造解析を行い、両末端の構造的役割の解明を試みた。

構造解析は、氷包埋したフィラメントの像を極低温電子顕微鏡で記録し、3次元像再構成法を用いて行った。層線データは振幅と位相の両方についてコントラスト伝達関数(CTF)の補正を行い、およそ15本の像を平均した。データの質と信頼度はX線繊維回折の強度データとの比較等により評価し、ほぼ9 Åの分解能が得られたことが示された。

フィラメントの特徴的な構造は、サブユニットが高密度にパックされたコア領域と、そこから斜めに突き出した比較的密でない外部領域に分かれていた。コア領域は高密度な2重のチューブ構造からなり、その間にはスポーク様の構造で結合されていた。1655フィラメントと1660フィラメントの全体構造は良く似ており、R型とL型の間のサブユニットのコンフォメーションの変換は、コア領域の中で起こる小さな変化であることが示唆された。チューブ構造の中に $\alpha$ -ヘリックスと考えられる軸方向に並んだロッド状の電子密度が複数見られた。1655と1660フィラメントでは外側のチューブのロッドの分布と結合性が異なっており、これらの $\alpha$ -ヘリックスのパッキングの違いがフィラメントのらせん対称性を変えている可能性がある。557フィラメントでは突起部の先端部分が欠損し、外部領域におけるサブユニット間の結合が失われていたことから、外部領域はサブユニットの重合やパッキングの決定には関係しないが、フィラメントの安定性を高め、多型変換を調節するために重要な役割を果たしていることが示された。末端のアミノ酸を除去したフィラメントは、除去したアミノ酸残基の数によらず、新しい左巻きのらせん対称性を持っていた。それらの構造は共通して内側のチューブ構造のみが壊れていた。このことから、N末端とC末端が内側のチューブ構造を構成していることが証明された。同時に、内側のチューブ構造が、多径変換能、すなわちサブユニットのコンフォメーションとパッキングのスイッチング機構にとって不可欠であることが明らかにされた。

## 論文審査の結果の要旨

バクテリアは、らせん状のべん毛を回転させて水中を泳ぎ回る。べん毛の回転は、根元にあるプロトンで駆動される数十nmの回転モーターによって引き起こされる。バクテリアは、外部刺激に反応して色々な方向に泳ぎ回るが、方向変換はモーターの回転方向を変えることによって行う。このとき、べん毛のらせんの向きやピッチも巧妙に調節して非常に効率の良い動きをする。べん毛は、数nmのフラジェリンと呼ばれる球状タンパク質が重合したもので、太さ約20nm、長さ約10 $\mu$ mのフィラメントであるが、どのようなしくみで外部環境に応じてその形をいろいろに変えることができるのかよく解っていない。本研究では、変異株から調整したらせんが右巻き、左巻きの直線フィラメント、アミノ酸配列の中央部の89残基を欠損したフィラメントの3種類の氷包埋像を極低温高分解能電子顕微鏡でとり、3次元再構成法を使って0.9nmの分解能で構造を決めた。構造は、半径6nmまでのサブユニットは高密度にパックされたコア領域と、そこから斜めに突き出した低密度の外部領域に分かれており、らせんの右巻き左巻きの変換はコア領域の $\alpha$ -ヘリックスのパッキングの違いによるものであること、そして、外部領域はフィラメントの安定性、多変形の調節に関係していることが示唆された。本研究は、べん毛の構造を電顕像から3次元再構成し、その多形変換のメカニズムに関して重要な知見をもたらしており、学位論文として価値あると認める。