

Title	The mechanism of polymorphic supercoiling of the bacterial flagellar filament revealed by X-ray fiber diffraction
Author(s)	長谷川, 和也
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/41602">https://hdl.handle.net/11094/41602</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〉をご参照ください。

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

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

Osaka University

氏名	はせがわ かず や 長谷川 和也
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 14427 号
学位授与年月日	平成11年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科高分子科学専攻
学位論文名	The mechanism of polymorphic supercoiling of the bacterial flagellar filament revealed by X-ray fiber diffraction (X線繊維回析法によるベン毛フィラメント多型変換機構の解析)
論文審査委員	(主査) 教授 月原 富武  (副査) 教授 則末 尚志 助教授 松浦 良樹 助教授 楠木 正己

### 論文内容の要旨

細菌のベン毛フィラメントは、単一たん白質フラジェリンの自己集合により形成されるにもかかわらずらせん形をしており、モーターの反転や環境の変化に応じて、らせんの形状を変える多型変換能を持っている。これは、フラジェリンのコンフォメーションまたはサブユニット間相互作用に2つの安定な状態が存在し、それらがフィラメント中に規則的に共存している為であると考えられており(2状態モデル)、理論上2種類の直線型と10種類のらせん型フィラメントを形成する事ができるとされている。変異株1660と1655由来のL型、R型フィラメントは直線型フィラメントを形成するが、これらの変異株由来のフラジェリンを共重合させると、その比に応じてさまざまな形のらせん型フィラメントが形成されることから、これら直線型フィラメント中でのサブユニット間の相互作用は、らせん型フィラメント中に存在する2種類の相互作用に対応していると考えられている。従って、これら2種類の直線型フィラメントの構造解析を行えば、ベン毛フィラメントの多型変換機構を明らかにする事ができる。そこで、本研究では、X線繊維回析法によりL型とR型の直線型フィラメントの構造解析を行った。

L型とR型の直線型フィラメントのX線繊維回析像は、3.5Åまで層線反射を示す良好なものであるが、隣接する層線の間隔が非常に狭い。R型フィラメントでは、2Dプロファイルフィッティング法により9Åまでの構造振幅を得る事ができたが、L型フィラメントでは層線間隔がR型に比べて2倍以上狭いため、精度よく構造振幅を抽出する事ができなかった。抽出されたR型フィラメントの構造振幅に極低温電子顕微鏡による構造解析から得られた位相をつけた後、溶媒領域平滑化法により位相の改良を行い電子密度を得た。この9Å分解能の電子密度図から、フィラメント中心部に同心円状に存在しているインナーチューブとアウターチューブが、ほぼ軸方向に沿って並ぶ $\alpha$ -ヘリックスの束により形成されていることがわかった。

また、回析像の低分解能領域での層線反射の位置から両フィラメントのらせん対称性と周期長を精度よく決定する事ができた。アウターチューブの重心である半径45ÅでのL型とR型のサブユニットのパッキングの比較をおこなったところ、L型からR型への変換に伴い、サブユニットが素繊維(ほぼ軸に沿ったサブユニットの並び)に沿って並進し、その結果、素繊維に沿ったサブユニット間距離が、0.8Å短くなる事がわかった。アウターチューブは、 $\alpha$ -ヘリックスの束により形成されている事から、L型からR型への変換に伴い、アウターチューブで $\alpha$ -ヘリックス間の相互作用部位が素繊維方向に沿ってずれると考えられる。

2状態モデルに基づき、構造解析で得られたパラメーター(アウターチューブの半径、L型とR型の格子)を用い

て、理論上予想される10種類のらせん型フィラメントの形状を予測した。この結果、実際に菌体上のベン毛で観察されたらせん形と良く一致し、2状態モデルの正しさと、予測に用いた構造パラメーターの正さが確かめられた。

#### 論文審査の結果の要旨

長谷川君の論文はバクテリアのベン毛のX線繊維解析による構造研究に関するものである。巨視的には直線状になるベン毛を調整して、その繊維回析像の撮影に成功した。その回析像に基づいて9 Å分解能で構造決定を行った。その構造に基づいて、ベン毛が種々の巨視的なら線構造をとる要因が蛋白質サブユニットの配置の微小な変化によることを明らかにした。この研究はベン毛の構造と機能の研究を飛躍的に発展させる基盤を確立した。よって、この論文は博士（理学）の学位論文として十分価値のあるものと認める。