

## 強いラマン光学活性に関係するべん毛繊維のフラジェリン分子配列の違い

(群大・院工・ナノ材料\* 名大・院工・応用物理\*\* 放送大\*\*\*)

○内山具典\*、園山正史\*\*、濱田嘉昭\*\*\*、大澤研二\*

### はじめに

バクテリアのべん毛繊維はフラジェリンと呼ばれる蛋白質サブユニットが重合してできており、左巻きらせん形をとる正常型と変異体から作られる直線形などがある。直線形には繊維構造を作る素繊維の傾きからL型とR型があり、それぞれL型とR型の変異型フラジェリンが重合している。らせん形のべん毛はねじれの力が加わることや、pH や塩濃度などの環境の変化によってらせんのピッチや巻き方向が変わり、これらの現象は多型変換と呼ばれている。べん毛は環境条件だけでなく、L型とR型の素繊維の割合によって様々な形をとり、正常型を含む左巻きや右巻きのピッチの異なるものが生じる。

### べん毛繊維の構造解析の現状

べん毛繊維の構造は直線形べん毛繊維の配向試料の X 線回折像や、電子顕微鏡像から解析されている。また、断片化したフラジェリン分子の結晶は X 線構造解析により構造が解析され、分子構造を電子顕微鏡からの密度分布図に当てはめることにより、繊維中のフラジェリン分子間相互作用の情報が得られている。しかしらせん形べん毛繊維は直線形のように繊維構造に対称性がないため、X 線、電子顕微鏡では解析できず、そのため、多型変換の原因であるフラジェリンの構造変化や分子間相互作用の変化は未だ解明されていない。

### 目的

本研究の目的は、解析に結晶構造を必要とせず繊維が配向しない水溶液中でも測定することが可能なラマンおよびラマン光学活性 (ROA) スペクトル分光法を用いて直線形やらせん形のべん毛繊維と単量体フラジェリンを測定し、スペクトルの違いからフラジェリン分子の構造変化を解析することによりべん毛繊維構造の構築や多型変換に関わる分子機構を解明することである。

### ラマンおよびラマン光学活性 (ROA) スペクトル

ラマンスペクトルから、蛋白質の二次構造や特定のアミノ酸残基の情報が得られ、局所的な構造の違いや環境を推定できる。一方、左右円偏光のラマン散乱光強度差を検出する ROA スペクトルから、サブユニット分子間あるいは分子内セグメント間の相対的な位置関係や相互作用を反映する情報が得られ、特にべん毛繊維では構造の周期性に関係した信号の検出が期待される。

## 結果・考察

変異体由来のL型直線形べん毛繊維と単量体フラジェリンはラマンスペクトルでは波形がほぼ同じであるのに対し、ROAスペクトルでは重合体のみで強いピークが検出され、単量体ではピークは見られなかった。これに対してR型直線形及び正常型らせん形べん毛繊維では強いピークは検出されなかった。これらの結果よりL型べん毛繊維だけが特異な光学活性を示す周期構造をとっていると考えられる。この特異な光学活性構造が繊維構造のどの部分にあるかを解明するため、次のような実験を行った。変異型フラジェリン自体に起因するかどうかを調べるためのL型とR型のフラジェリンを共重合させた繊維、繊維の長さの影響を調べるためのL型直線形べん毛繊維を切断した試料、直線形に最も近い左巻きらせんでピッチの長い試料を測定した。その結果、L型直線形でなおかつ、ある程度の長さを持った繊維からしか強いピークは検出されなかった。これらのことから、強いROAスペクトルはフラジェリン分子配列の方向性や繊維の長軸に沿った周期構造が関係すると考えられる。

また、試料濃度がスペクトルにどのように影響するかを調べるため、それぞれのべん毛繊維懸濁液の濃度を変化させて測定を行っているので、本討論会ではそれらの結果も合わせて紹介する予定である。

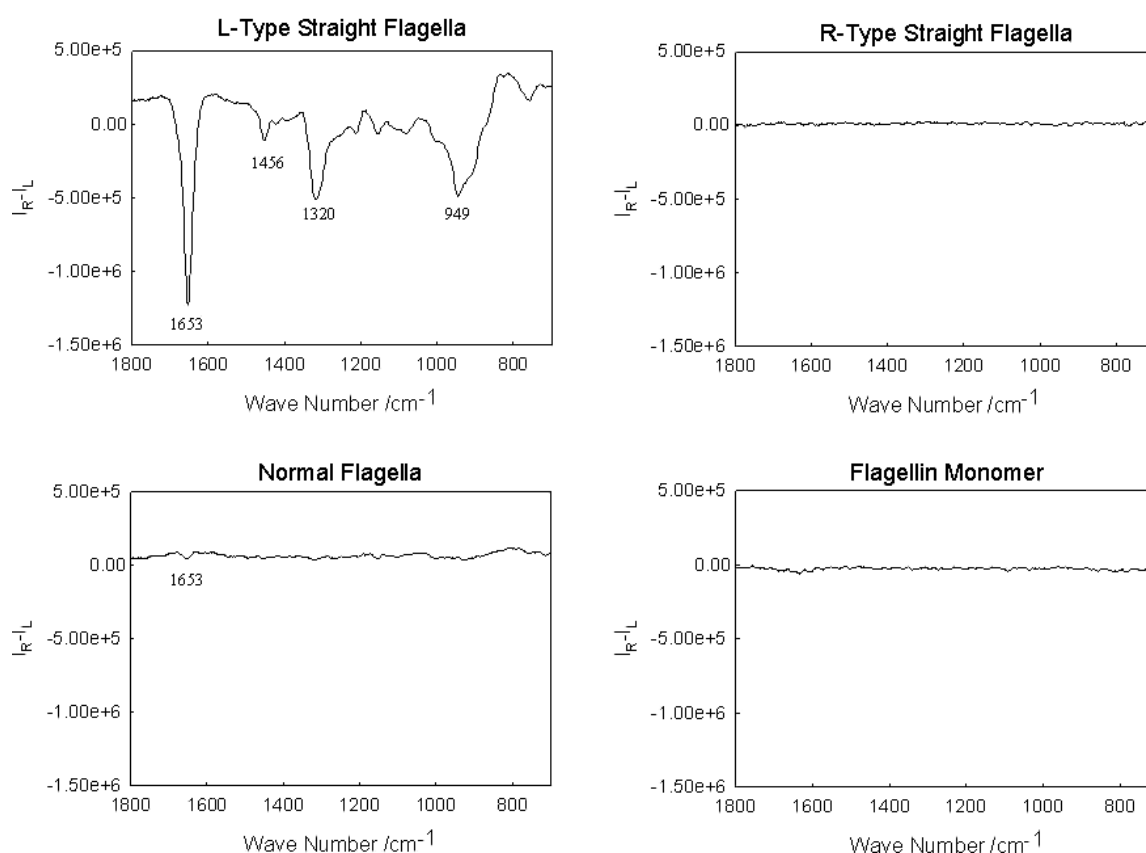


図 ROA スペクトル L型直線形べん毛繊維 (左上) R型直線形べん毛繊維 (右上)  
正常型らせん形べん毛繊維 (左下) 単量体フラジェリン (右下)