合成がすでに述べた様式、即ちアダプターに結合したアミノ酸がメッセンジャー RNA の所に集まってくる事により行われる。重要な点はこのメッセンジャー RNA の生命は非常に短く、蛋白合成の過程で消費されてしまうという事である。故にリボゾームとメッセンジャー RNA は特定の蛋白質をつくり、メッセンジャーはこわれて残ったリボゾームは他のメッセンジャー RNA と結合するのである。1つのリボゾームについて云えばある時期には酵素Aを作り、次の時期には酵素Bを作るという事になる。即ちリボゾーム自体は分化して居らず、どの様なメッセンジャーと結ばれるかによりその機能が決定されるのである。

さて、この仮説と前述の形質発現の制御機構とが如何に適合するだろうか？ まずオペレーターが閉じると、メッセンジャー RNA の合成はとまる。故に、すでに特定のメッセンジャーと結びついたリボゾームのみは非常に短い期間その蛋白質をつくる。しかし、その後は同じ種類のメッセンジャーは最早送られて来ない故、それに対応する酵素蛋白の合成は停止する。次にもしリプレッサーが細胞から除かれるとオペレーターは開き、メッセンジャー RNA の合成が始まり、リボゾームと結びつき、再び蛋白質の合成は始まる。

次に、この様な考えを支持する実験の2,3について述べる。リボゾームがすでに分化しているという考え方を殆ど決定的に打ち消すものとしてはバクテリオファージの成長についての実験をあげる事ができよう。ファージがバクテリアに感染すると全蛋白合成は感染前と殆ど同じ速度で続いて行く。しかしその際細胞内で作られる蛋白質の型、性質は非常に異なる。感染が始まるや否や作られる蛋白質の型は感染前のそれとは

全く異なってくる。しかし感染によってすべてのリボゾームの合成は停止する。即ち感染後に作られる蛋白質はすべて感染前からあったリボゾームによって作られるにも拘らず、作られてくる蛋白質は全く変わってくるのである。この理由としては次の様な事が考えられる。即ち、感染後にウイルスの DNA が新しい型のメッセンジャー RNA を送り出し、この新しいメッセンジャーはすべての空いているリボゾームと結びつき全く新しいルートを通して蛋白合成が行われると考える。実際にメッセンジャー RNA がはじめて証明されたのはファージ感染菌においてである。バクテリオファージ感染菌では新しい型の RNA が認められ、それは非常に代謝の早いものである事が判った。この性質は安定なリボゾームの RNA と一致しないものである。更に昨年の夏、Jacob, Meselson, Brenner らはファージ感染菌で作られる代謝の早い RNA が実際感染前に存在したリボゾームと結合する事を証明した。

ここに以上の発見を要約すると①遺伝子には2つの型、即ち、構造遺伝子と制御遺伝子があること、②構造遺伝子はある蛋白質のポリペプチドの配列を決定する遺伝情報をもつ事、③制御遺伝子は構造遺伝子が実際にその情報を送り出すかどうかを決定する事、④構造遺伝子のもつ情報は先ずメッセンジャー RNA の合成を通じて送り出され、そのメッセンジャー RNA が細胞内の既存のリボゾームと結合し、そこで作られるポリペプチドの鋳型として働く事、以上である。この様な考え方は現在の所完全に証明されたというには程遠く、多くの重要な実験が残されているが私自身は今後2,3年間にこの概念が事実と相違する様な結果になることはないであろうと信ずるものである。

筋収縮と筋蛋白の物理化学

——筋蛋白アクチンを中心として——

※
名古屋大学・理学部物理学教室 大 沢 文 夫

1. 序

筋収縮、あるいは広く生きものの運動現象はもっとも重要な生命現象の一つである。筋肉は生体内に貯えられた化学的エネルギーを力学的エネルギーに変換する。そこでは生体の構造と機能がとがきりはなせない関

係にある。構造の変化そのものが機能である。生体の高次の構造がいかにくみ立てられ、それとともに機能がいかに発生してくるかという生物学の根本問題探究のためのもっとも良い対象がこの筋収縮乃至生体運動現象であると考えられる。

※ Fumio Oosawa, Physics Department, Nagoya University.

物 質	構 造	機 能
トロポミオン		無塩溶液中で重合
G ア ク チ ン		生理的塩環境で重合, ミオシンと結合 ATP と強く結合, 重合時に ATP 分解
F ア ク チ ン	G ア ク チ ンの重合体	ATP と強く結合, 音波下で ATP 分解, チクソトロピックゲル形成
L-メロミオン		生理的塩環境で沈澱
H-メロミオン		ATP 分解 アクトニンと結合
ミ オ シ ン	L-メロミオン+Hメロミオン+ α	ATP 分解, 生理的塩環境で沈澱, ア クチンと結合
アクトミオン	F ア ク チ ン+ミオシン(溶解域)	ATP により解離 (ATP 分解活性はミオシンと同様)
アクトミオン	F ア ク チ ン+ミオシン(沈澱域)	ATP によりゾルの収縮ゾルの超沈澱 (ATP 分解活性はミオシンと異なる)
(横 紋) 筋	ミオシン, アクチン (αトロポミオ シンの) 2 重フィラメント構造	速やかな 自動調節的 収縮弛緩

第 1 表

この問題を分子のレベルで捉えようとするきっかけを与えたのは Engelhardt, Szent-Gyorgyi らである¹⁾。彼らは、生きた筋から抽出された蛋白系アクトミオン (Actomyosin) が in vitro で生理的塩環境でアデノシン 3 リンサン (ATP) との相互作用によって“収縮現象”を再現することを発見した。すなわちアクトミオンで作られた糸は ATP によって収縮し、アクトミオシンのゾルの場合は ATP によって超沈澱とよばれる固い沈澱を作る。このことから、筋収縮をになう基本的体系は“アクトミオン+ATP+各種低分子イオン+水”系であると信じられるようになった。それ以来、約20年、実に莫大な量の研究が集中されてきたにもかかわらず、筋収縮の分子的内容は何か、という問に対する答えにはいまだ道遠しの感が深い。これは生きている現象の複雑さを物語るものである。

ある1次構造をもった筋蛋白分子が特殊な構造を作り、これら分子が分子間複合体を作り、その複合体がさらに高次の構造を適当な媒質中で作ることによって筋肉が構成される。構造の1つの段階においてもっていた機能が、次の段階で高次の機能へと発展し、あるときには質的に新しい機能が発生する。死んでいる各構成要素から見方によっては無数に近い段階を経て生きている筋肉が生れる。筋収縮現象の真の理解が非常に困難であることは当然であろう。

アクトミオン系に主眼を置いて、このような構造と機能とが展開していく各段階を概観すると第1表のようになる。もちろん、いろいろの段階の区切り方があり、特に、アクトミオンと(横紋)筋との間にははるかなへだたりがあろう。しかし、非常に進化した構造をもち、そこでは各蛋白の機能が分化しているようにみえる横紋筋と、アクトミオン=アクトニン+ミオニン系とを結びつけようと努めることは問題点を明

らかにするのにむしろ有益と考えられる(平滑筋や他の種々の運動器官では必ずしもアクトニン+ミオニン系という段階を想定することは適当でないかもしれない)。

2. 横紋筋の構造

そこでまず、でき上った収縮系としての横紋筋の微細構造をみよう。この方面での H. Huxley 及び Hanson による電子顕微鏡を用いての研究は筋に関して、Szent-Gyorgyi

以来最大の成果をあげた²⁾。彼らの結論だけを示すと第1図のようになる。筋セニイの方向に平行に交互にいくんで走る太いのと細いのとの2種のフィラメントがある。横紋筋にはその名の如く、密度が高く光学的複屈折の大きい A-band と密度が低く光学的複屈折のない I-band とが筋セニイと直角に交互に並び縞を作っている。I-band には細い (Thin) フィラメントがあり、A-band には Thin とともに太い (Thick) フィラメントがある。A-band の光学的複屈折はこの Thick フィラメントによる。Thin フィラメントは A-band の中央部で切れているらしく、この部分は H-band と呼ばれ、少し密度が低い。I-band の中央に Z-膜があり、Z から Z までが横紋筋構造上の単位である。筋セニイと直角方向の断面をみると、上の2種のフィラメントはほぼ hexagonal に並んでいる。すなわち A-band の中で各 Thin フィラメントは3

第 1 図

第 2 図

本の Thick フィラメントに、各 Thick フィラメントは 6 本の Thin フィラメントに囲まれている。もっとも、I-band における Thin フィラメント同志の配列はあまり規則的ではない。

筋の収縮弛緩はこの構造のどのような変化によるのか。A. Huxley は特殊な干渉顕微鏡を作り、収縮弛緩に伴って A-band の巾は変らず、I-band の巾だけが短縮膨脹することを見出した。これは Thick フィラメントは不変で、Thin フィラメントが収縮あるいは少くとも動くことを意味する。彼はさらに、収縮時に H-band が短縮することを示して、Thin フィラメントの全体の長さ是不変であると主張する。すなわち収縮は Thick, Thin 両フィラメントが相対的にすべることによるといふ。収縮の結果として、両フィラメントそれぞれには変化なく、単に相対的位置の変化のみが起るのである (第 2 図 a: Sliding Theory)。I-band の巾の短縮膨脹につれて、H-band の巾も短縮膨脹することが事実ならば、この Sliding Theory がもっとも確からしい答えであろう。しかし A-band がそのまま I-band だけが短縮膨脹するという事実のみに立脚するならば、Sliding 以外の可能性として Thin フィラメントの folding (ぴんと伸びた状態からくねくね曲った状態への変化) が考えられる (第 2 図 b: Folding Theory)。またたとえば Thin フィラメントが Thick フィラメントの上に積みかさなっていくような過程も想定できよう。

3. 各筋蛋白の位置と動き

ところで筋蛋白、アクチン、ミオシンはそれぞれどのような横紋筋のどの部分を作っているか。ミオシンは高塩濃度中性 pH で in vitro に抽出されてくる。この抽出前後の顕微鏡像を比較することによって、Thick フィラメントがミオシンでできていることがほぼ確かになった。免疫化学的方法による実験もこのことを支

持する。そして Thick フィラメントの量が筋中のミオシンの全量を大体説明することができる故、残りの Thin フィラメントがアクチン (及びトロポミオシン?) でできているらしいことになる。事実、アクチンは in vitro の生理的塩環境でフィラメント状重合体を形成する故、この考えはもっともらしい。Thick フィラメントの大きさとミオシンの分子量 (約 40 万?) とを比較すると各 Thick フィラメントは百余のミオシン分子からできていることが期待され、Thin フィラメントの方も同様百余の G アクチン分子からできているらしい。

以上を総合すると、筋収縮はミオシンフィラメントに相対的にアクチンフィラメントが Sliding あるいは Folding することによる。この結論は未だに一般に受け入れられてはいない。電子顕微鏡による観察の結果及び解釈にしても異論の絶えまない。しかし、大勢として非常に重要視しなければならない考えである。この考え、特に Sliding Theory は物理化学者や酵素化学者にとっては意外であった。たとえば高分子物理化学者は筋の種々のモデルを鎖状高分子によって作ってきたが、その主なものは高分子電解質ゲルモデルと高分子結晶モデルである。前者は高分子上の電荷の中和によって収縮し、後者は高分子結晶の融解によって収縮する。これらのモデルは筋収縮の分子的内容を解析するのに有効な基礎を与えてきた。しかし、生きた筋に接近しようという場合、満足できないのは明らかである。そこには 2 重フィラメント構造がある。しかも、各フィラメントは多数の単位蛋白分子の集合体なのである。このようなよくオルガナイズされた高次の構造の存在は高分子モデルの側からは無視されがちであった。実際の筋はその構造をもっともよく生かしてフィラメント相互の Sliding 乃至 Folding を起しているであろう。

抽出された筋蛋白アクトミオシン系についての物理化学的酵素化学的研究の面でも、その ATP による収縮が Sliding か Folding か、あるいは収縮に際してアクチン、ミオシンのそれぞれに内的変化が起るか、それとも相対的配列の変化のみが起るか、などの点は全くわかっていない。むしろこのような問題のたて方があまり意識されていなかったのかもしれないし、また今まで扱ってきた in vitro の系によってこの問題の答えを求めるのは無理なのかもしれない。

基礎的には、たとえば、アクチンフィラメントが上にのべたような動きのできる性質をもつかどうか重要な問題である。アクチンフィラメントがミオシンフィ

第 3 図

ラメントに受動的にひっぱりこまれるか、あるいは自ら積極的にすべりこむのかわからないけれども、いずれにしてもアクチンフィラメントに Slide 乃至 Fold できる性格が内在しているはずである。そこで、ここではわれわれの研究室でえた成果を中心にしながら以上の点を重点的に追及することにした。

4. アクチンの重合と動的平衡

アクチンはミオシン抽出後の筋をアセトンで十分処理して作った乾燥筋から純水によって抽出されるもので、Straub らが発見した。この純水の中ではアクチンは分子量約10万のオーダーの粒状蛋白(Gアクチン)として存在する。このGアクチン溶液に塩を加えて生理的塩環境にすると粘度が非常に上昇し、著しい流動複屈折を示すようになる。このときGアクチンは重合して非常に長い(長さ数ミクロンにも達する)フィラメント(Fアクチン)になったのである。Mg⁺⁺のような2価陽イオンならば極く少量(～1mM)でも重合をおこせる。この重合は可逆的で溶液中から透析によって塩を除去すると、Fアクチンはばらばらに切れてGアクチンに戻る(第3図)。

重要なのは、各GアクチンはATPを結合しており、このATPが重合に際してADPと無機リン酸に分解することである。逆のFアクチンからGアクチンへの解重合の過程ではこのADPとリン酸とからATPを再合成しはしない。FアクチンからATPを結合したGアクチンを作るにはATPを含んだ溶媒中で解重合させ、新しいATPをGアクチンに吸着させなければならない。もしATPを結合していないGアクチンができるとこれはまもなく変性し、再び重合する能力を失ってしまう。故にATPの存在下でGアクチン溶液に塩を加え、つぎに塩をぬいてG→F→Gのサイクルを画かせると、そとにATP→ADP+Pという反応結果が残る。

このようにアクチンは低分子塩の濃度の変化に伴っ

て重合反応を起す。筋収縮におけるアクチンの役目を思うとき、次の問題が提出される。アクチン重合体は固定した構造をもっているか。あるいは、生理的塩環境においてアクチン分子はFアクチンという構造体の中にくみこまれたまま何の動きもできない状態にいるか。アクチンの性格から何かdynamicな面をとりだせないものか。この点に関連して第一に指摘したいのは、適当な溶媒条件でGアクチン、Fアクチン間に動的平衡が成立することである。⁸⁾

低塩濃度でGアクチンの重合速度は塩濃度増加とともに増加し、Fアクチンの脱重合速度は塩濃度増加とともに減少する。その結果、生理的塩濃度ではもっともよく重合し、溶液中のアクチンのほとんどがFアクチン状態にある。中間的塩濃度では、G→F、F→G両速度に大差なくなり、したがってGアクチンとFアクチンとが平衡に共存し、各アクチン分子はG→F→Gとサイクルをくりかえしていることが期待できる。重合体にくみこまれたり、ばらばらになったりしている。いいかえればアクチン分子間の結合がついたりはなれたりしている。これが事実ならば、重合反応にはATPの分解が伴う故、この平衡共存状態で各アクチンが何回もATP分解を行っているにちがいない。この期待は実験によって確かめられた。すなわち中間的塩濃度でも初期条件に無関係に溶媒条件で一定にきまる最終平衡(定常)状態が存在し、そこでの物理的実験はG、Fアクチンの共存を示し、化学的実験はGFサイクルによる連続的ATP分解を明らかにした(平⁸⁾⁹⁾

第4図 G-F 平衡と塩濃度との関係
(ATP: 1.5mM/L; アクチン: 0.6mg/mL; 10°C; pH: 8.3)

衡状態における塩濃度と F アクチン濃度との関係の 1 例を第 4 図で示す)。

G, F アクチンの共存は生理的塩濃度でもみられる。ただその G $\rightleftharpoons$ F サイクルのまわりがおそい。塩濃度が高すぎて再び F アクチンが解重合し, G, F アクチンがほぼ等量共存するときも, G $\rightleftharpoons$ F の速かな回転が見出されている。

5. アクチン重合の協同現象的性格

ところで, 上述の中間状態で溶液中のアクチンの構成はどうなっているか。ばらばらの G アクチンと非常に長い F アクチンとが共存するか, それとも短い重合体が存在するか。実験の結果は前者の正しいことを示した。たとえば F アクチン濃度が非常に稀薄のときでもできた F アクチンは極めて長いフィラメントを作る。しかもこの G アクチンと F アクチンとの関係が気体と液体との関係に相似していること, すなわち, 一種の凝縮現象とみなせることが総合的物理的実験によって発見された。気体と液体との間には中間状態がなくて, 一定量の気体を圧縮していけばある臨界密度で急に液体が生成し, 以後この液体は飽和蒸気圧の気体と平衡に共存する。あるいは沈澱と溶解現象と似ているといってもよい。溶質の濃度を増していくとある臨界濃度で沈澱が生成し, 沈澱体は飽和濃度に溶けた溶質分子と平衡に共存する。G-F 変換でもこのような臨界点がある。

第 5 図

ある。一定の塩濃度でアクチン濃度を増していくとある濃度で F アクチンが生成し始める (第 5 図)。F アクチンが気 $\rightarrow$ 液の液体に, 又沈澱と溶解の沈澱体に対応する。ただ普通の 3 次元

的液相乃至固相ではなくて, フィラメント状なのである。アクチンの G-F 変換が気 $\rightarrow$ 液凝縮現象と同様であることは, またそれが協同現象であることを意味する。これを直接証明するために, G-F 変換の速度論的解析がなされ, いくつかの事実が発見された。1 つは G アクチン溶液に塩を加えて重合させるとき, 同時に少量の F アクチンを加えると重合が非常に加速されることである。あたかも, 過飽和蒸気に小液滴を入れれば液

化が促進されること, あるいは結晶化促進に結晶核添加が有効であるのと同じである。また G-F 変換速度と G アクチン濃度との関係にも協同現象の性格がみえる。すなわち変換の初期速度は G アクチン濃度増加とともに急激に増加し, 濃度のほぼ 3 乃至 4 乗に比例する。このことから重合の際, G アクチン分子 3 個か 4 個で作られる集合体が核になると考えられる。重合の際, 粘度や流動被屈折の増加と ATP 分解とは完全に平行に起る。故に ATP 分解は重合する前に個々の G アクチン上で独立に行われる反応ではなくて, G アクチン同志の相互作用によって始めて行われるものである。

以上のようなアクチンの重合反応の物理的特徴, 凝縮型, 協同現象型であることは, 一見, 筋収縮と関係のない話のように思われる。筋の中で収縮弛緩が F アクチンが G アクチンに分解してしまい, また再重合するという反応によることはあまり可能性がない。しかし, 実は話はここで終わらなくて, 上の事実, アクチンフィラメントの構造と機能について重要な示唆を与える。

6. F アクチンの構造

アクチンの重合, すなわち G-F 変換は単純な線状の一群のじゅずつなぎ反応とは考えられない。そのようなじゅずつなぎでは協同現象の性格はでてこない。上述の種々の実験事実を統一的に説明できるモデルとして, F アクチン——らせん状重合体 (Helical Polymer) 説を提出したい。第 6 図 a) は単純な線状重合体 (Linear Polymer) である。各分子が隣接する 2 個の分子と 1 種類の結合によってつながるだけであればこのような線状重合体しかできない。しかし各分子が 2 種類の結合を 4 個の分子との間に作る能力があるときは種々の 2 次元的

第 6 図 a: linear polymer—線状重合体
b: helical polymer—らせん状重合体
(b) は (a) が巻いてらせんになったものとみなすことができる。(b) 図の中の斜線部はらせんの核

3 次元的重合体が形成される。その特別な場合として, a) の線状重合体がらせん状に巻いて, 第 1 番の分子と第 4 番の分子との間というように規則的に結合ができると, b) のらせん状重合体ができる。b) の中には a) のときにあつた結合以外に b) の上下方

向に別種の結合ができた。ちょうど、蛋白の α -helix 構造のとき、分子内の各アミノ酸はポリペプチド主鎖の結合によって隣のアミノ酸とつながる以外に、主鎖に沿って3個前、3個後のアミノ酸と水素結合によってつながっているのと同様である。b) の斜線部分は4個の分子からできており、らせん状重合体の核と考えられる。この核が一たんできると、あとのらせん状重合体への成長は楽に起るが、核自体は4個のGアクチンが特殊な相互作用をしなければならないのでなかなかできにくい。そしてこの核の生成濃度が G-F 変換の初期速度を規定するであろう。らせん状重合の場合には反応が凝縮型になることが、結合の自由エネルギーについての妥当な仮定の下に理論的に証明できる。すなわち、らせん状重合体と、モノマー（及び小さな線状重合体）との間の関係が、液体—気体的になる。これは蛋白の α -helix から random coil への変換が結晶—液体的になるのと類似の理由である（らせん状重合も根本的には一次元成長であるから完全に相転移的になるのではないが、近似的、類似的に相転移現象になる）。

さて、単位Gアクチンはその大きさ、形がまだわかっていない。分子量についてもまちまちのデータがあるが、最新の綿密な光散乱測定からは約110,000とでている。これに対して化学的測定は分子量約60,000に1個のATPがついていることを示す。故に物理的運動単位としての各Gアクチンは2個のATPをもつと考えられる。もしGアクチン間の結合1個に1個のATP乃至その分解物が関与するならば、らせん状重合体におけるように各Gアクチンは4個のGアクチンと結合できる。Gアクチンを剛体楕円体状と仮定すると、粘度その他の実験結果から $(400 \text{ \AA}) \times (22 \text{ \AA})^2$ というような形が想定できる。Gアクチン中には α -helix 部分が少いといわれるので、剛体でなくもっとほどけた形になっているかもしれない。Fアクチン乃至筋フィラメントにも約400 $\text{\AA}$ の週期構造がみられる。らせん状重合体であるFアクチンの仮想的断面を

第7図 F アクチン断面想像図

第7図にかいた。重合にATP分解が伴うが、そのときできた分解物の内ADPはFアクチンに固く結合している。Fアクチン中のアクチン分子量約60,000に1個のADP

は遠心沈殿や洗うことでは離れない。それ故このADPは直接アクチン間結合の中にくみ込まれていると考えられる。これが事実ならば強引にADPを除くと、Fアクチンはこわれるはずである。実はADPはFアクチンを非常に長く（ADPなしの生理的塩濃度の溶媒へ）透析すると徐々にぬける。そのときのADP残量と（流動複屈折度からみた）Fアクチン残量との関係は第8図のようになる^{10c)}。たとえばADPが半分になってもFアクチン量はあまり減少していない。ただADPが非常に少くなると急にFアクチンがこわれる。この関係もFアクチンがGアクチンの線状重合体で各結合にADPが入っているとすると説明できない。らせん状重合体を考えて、Fアクチン内の各Gアクチンはまわりの4つのGアクチンと結合し、この4つの結合が全部切れると始めて1個のGアクチンが外れるとすればよく説明できる。ただし各結合の中のADPがとれる確率は相互に無関係で一定であるとする。すなわち、らせん状重合体には、全体のGアクチンの空間配列を破壊することなしに、いくつかの結合を切ることができるという特徴がある。なおここでX線回折の方からもFアクチンが1種のらせん状構造をもつことが主張されていることをつけ加えたい。Fアクチンの電子顕微鏡像も、そのらせん状構造を示したものと受けとれる。¹¹⁾

第8図 F アクチン溶液の長期透析中のADP含量と複屈折度減少
KCl 0.1 M. Tris-HCl buffer 7mM (pH 8.0)
Actin Conc. 6.0mg/mL. temp 4°C

7. アクチン重合体の機能

見やすいように第9図の重合体を考える。らせん状重合体に相当するb)は分子間の2種の結合A, Bによって作られる。結合Bがすべてできると線状重合体

第9図

A (図の c) ができ、結合 A が全部切れると、2本の線状重合体 B (図の a) ができる。いいかえれば、らせん状重合体は線状重合体 A が巻くことによっても、線状重合体 B が少しズレた位置で平行に会合することによっても作られる。もちろん、これらの3種の他に中間的なもの、半分はらせんで半分は線状であるものとか、枝分れしたものとか種々の重合体がありうる。F アクチンの場合も、らせんは理想的に画いたもので実際には、枝分れがあったりすることは当然考えなければならない。

F アクチンが大体らせんだとすると、別の溶媒条件でアクチンの線状重合体ができないものであろうか。さらに溶媒の変化に応じて、らせん→線状という重合体間転移を起す可能性はないか。現在のところ、この考えを直接支持する実験はない。しかし、このようなアクチン重合体の構造変化を示唆する2,3のデータをあげよう。

第一に、無塩環境でアクチン濃度が高いとき、線状重合体があるらしい。線状重合は凝縮型の性格をもたず、重合度とアクチン濃度との関係などかららせん状重合とはっきり区別できる。しかもこのアクチン線状重合体は、F アクチンと定性的に異なった組み上り方をしていることが電気複屈折測定から知れている。

第2に、F アクチン溶液に音波振動をかけることによって、かなりの速度で溶媒中にいれておいた ATP の分解が起ることが見出された^(10e)。アクチンが $G \rightarrow F \rightarrow G$ とサイクルをまわれば ATP 分解が行われる。しかしこの音波振動の場合、F アクチンが G アクチンにまでこわれてしまっていないと思われる。おそらく、第10図のように F アクチン全体の構造はこわれず

第10図 ATP 存在下における F アクチンの部分的切断と ATP 分解のサイクル

に、部分的に結合の生成消滅が行われているのであろう。結合の切れたあとでもアクチン相互は再結合しやすい相対的位置にあるのでサイクルのまわりが早い。もっとも、

結合が切れたとき ADP がとれ、溶媒中の ATP がつき、その ATP が分解されて結合ができる、というサイクルが常にかかるかどうかはわからない。むしろ ATP までまきこまなくて、ADP がとれずに再び結合ができる、とかあるいはとれても再びその ADP がついて結合ができるとかの場合も多いであろう。

音波をあてなくても元来アクチンはらせん状とはいってもがっちり固まった構造にはなっていないことがいろいろの事実から想像される。F アクチン溶液は著しいチクソトロピーを示し、特異な力学的・光学的緩和現象を示す。溶液中でゲル構造を作るが、その中の結合はたえず生成消滅している^{(9)(10g)}。また、F アクチン中で、G アクチンがかなり自由に回転できるらしいことが、蛍光偏光解消度の実験から想像されている⁽¹²⁾。誘電率分散の実験もこの想像を支持する^(10f)。

結局、F アクチンは G アクチンの高級な構造体であるが、決して固定したものではない。むしろ、新しい酵素作用とか、形態の変化とかの機能をもつことができるような特異な組み立てられ方になっている。

8. 低分子イオンとの関係

アクチンの G-F 変換、アクチン重合体の構造変化などは溶媒中の低分子イオンによって制御される。そのうちもっとも注目すべきものは2価陽イオン Mg^{++} 、 Ca^{++} そしてヌクレオチド ATP、ADP である。 Mg^{++} 、 Ca^{++} の動きは筋収縮のきっかけを与えるものであろうと考えられている^(13c)。in vitro のアクチンの場合も Mg^{++} と Ca^{++} はあるときには平行的あるときには対照的作用をもつ。第5回から期待されるように、低塩濃度では Mg^{++} 、 Ca^{++} とともにアクチン重合を促進し、生理的塩環境では Mg^{++} は重合を加速し、 Ca^{++} は重合をむしろ減速する。 Mg^{++} 、 Ca^{++} の一つの作用は、G アクチンに吸着し、G アクチンが元来もつ負電荷を打消し、G アクチン間電氣的斥力をへらすことである。電氣的斥力に G アクチン間に働く引力が勝つような溶媒条件になると、重合が起る^(10b)。 Mg^{++} 、 Ca^{++} は G アクチンにはほぼ同程度に吸着される故、これだけでは生理的塩環境での両イオンの差を説明できない。これと関連して、G アクチンと ATP との結合には Mg^{++} か Ca^{++} が必要であるらしく、しかも Ca^{++} の方が ATP をより安定化するという事実がある。この G アクチン—ATP—2 価イオンの複合体について第11図のモデルが提案されている。この複合体と他の G アクチンとが相互作用して ATP が分解され、ADP が G アクチン間結合にくみこまれる。図のモデルは Mg^{++} のときの方が ATP が分解が起りやすい構造に考えられ

第11図 G アクチン, ATP, 2価陽イオンの結合

ている。

F アクチンと ADP との結合も Mg^{++} , Ca^{++} によって安定化される。G アクチン間のADPの橋には Mg^{++} , Ca^{++} が関与しており、それらがとれると ADP がとれやすくなる。おそらく F アクチンの構造のゆるさが増すのではないか。音速振動下の F アクチンの ATP 分解活性は、生理的塩濃度で溶媒中に Mg^{++} , Ca^{++} を含まないときの方が含むときより大きい。

F アクチンからある程度 ADP がとれても、F アクチン自身はこわれず、これはF アクチンがらせん状重合体であるからであろうことは先にのべた。しかし ADP がとれるにつれて、流動複屈折度から測定されるF アクチン量はあまり変らないにも拘らず、粘度的性質はかなり変っている。これは ADP が部分的にとれたF アクチンは外力によって容易にこわされる、あるいは曲げられるためであろう。結局、2価陽イオン及びヌクレオチドとの相互作用を通じて、アクチン重合体の物理的性質の変化を期待することが許されよう。この辺にはアクチンの形態と機能の現象論のレベルとともに、よりミクロな分子構造論のレベルでの研究がぜひ必要である。

9. 筋収縮とアクチンフィラメント^{b)}

以上のアクチンの構造と機能とを参照にすると、最初にのべた筋収縮時におけるアクチンフィラメントの動きについてどのような内容を考えることができるか。

1つの可能性は Folding Theory と対応して、アクチン重合体の線状らせん状を収縮の内容とすることである。すなわち、筋の休止時のアクチンフィラメントはむしろ線状重合体乃至ゆるいらせん状重合体であるとする。それが周りの3本のみオシンフィラメントとの相互作用を契機としてらせん状重合体へ変換す

第 12 図

る。元来アクチンフィラメントはらせんになろうとする性格をもっており、それがミオシンによって外へ発現させられたとする(第12図)。

この説にとって筋中のアクチンフィラメントが in vitro のF アクチンと同じものかどうか問題になる。In vitro のF アクチンは列んだとき著しい光学的複屈折をもつにもかかわらず、筋中の Thin フィラメントが存在する I-band は複屈折を示さない。Thin フィラメントはF アクチンと異なった重合体かもしれない。事実横紋筋の電子顕微鏡で、I-band に存在する Thin フィラメントは線状に、A-band でミオシンフィラメントに囲まれている Thin フィラメント部分はらせん状に見えないこともない。ミオシン、アクチン両フィラメントの相互作用がもっとも能率よく働くとアクチンは自然にらせん状に進まざるをえない。

Sliding Theory と対応すると次のような機構が考えられる。アクチンのらせん状重合体がミオシンとの結合によってゆるめられ、線状化される。ミオシンフィラメントの上に多くのアクチンとの結合点がある。もしミオシンフィラメント上の隣接結合点間の距離が、らせん状重合体の軸に沿ってのG アクチン間距離よりも大きいならばミオシン、アクチン両フィラメント間結合に伴って、G アクチン間の縦の結合(結合 B) が外れなければならない。逆にミオシンアクチン間が切れてアクチン間結合 B ができると、アクチン重合体のその部分は収縮することになる(第13図a)。

第13図 13a

13b

ミオシンアクチン両フィラメントが平行に結合した状態から出発する。最下位の結合が切れ、この切れが上方へ伝播する。はなれたアクチンフィラメント部分は新しいアクチン間結合によりらせん状に収縮する。ある間隔をおいて下から再び結合が起り、それが上方

へ伝播する。結合部分のフィラメントは伸びている。こうして結合部解離部が交互に波となって上方に伝わるとともにアクチンフィラメントはミオシンと相対的に上方へずべる(第13図b)。各Gアクチンは相手のミオシンを交換しながら図a)のサイクルをくりかえす。この機構での重要な仮設の一つは結合波の一方向き伝播を可能にするフィラメントの方向性のある構造である。それはフィラメント自体の構造に原因するとしてもよいが、まわりのイオン環境の勾配によるともできる。もう一つの仮設は、ミオシンとの結合によって起きるアクチンフィラメントの収縮である。最近X線解析によって、Fアクチン構造はミオシンフィラメントの周期より少し短い周期をもつことが明らかにされたという¹⁴⁾。上ではアクチン重合体の変化はミオシンやイオン環境との反応によって起るとしたが、もっと極端に、ミオシンとの相互作用をまたず、イオン環境(2価陽イオン、ヌクレオチド等)との相互作用のみによってアクチン自身に状態変化(収縮)能力が現れるという考えも否定できない。そしてミオシンを単にアクチン収縮速度の調節役にするのである。

以上はアクチンの特徴をもつともよく生かすように考えられた収縮機構の例であって現在のところ仮想にすぎない。筋中におけるアクチンフィラメントの動性格を明らかにする目的で多くの実験が試みられてきた。筋中のアクチンは *in vitro* のFアクチンと同様ADPを固く結合しているらしい。そこでこのADPが筋の収縮弛緩に積極的に働いているかどうかしらべられたが否定的データ¹⁵⁾も、肯定的データもあり、今後の問題となっている。

10. 筋収縮とミオシンフィラメント

いままでアクチンの構造と機能の成り立ちについて話してきたが、ここで相手役であり、むしろ一般には主役と考えられているミオシンのやはり構造と機能という面について簡単にふれたい。アクチン+ミオシンであるアクトミオシンのゲルの収縮とかゾルの超沈澱とかにATP分解が平行して伴わなければならないことから、ミオシンのATP分解能及びアクチンとの結合能という機能が筋収縮に不可欠であることはいまでもないと思われる。ここではさらにミオシンの作る高次構造そのものがまた収縮に不可欠であろうことに注意したい。

すでに第1表に示したように、アクトミオシンのATPによる超沈澱は生理的塩環境では起るが、濃い塩中では起らない。濃い塩中でもミオシンのATP分解能とアクチンとの結合能は存在しているにも拘ら

ず、アクトミオシン+ATPの結果はアクチンとミオシンへの解離とATP分解後の再結合が起るのみである。両蛋白にとって2つの環境はどういう差をもたらすか。顕著なのはミオシンが生理的塩環境で沈澱(凝集)することである。故にミオシンが自ら凝集体を作りうるものが起沈澱に必要なのではないか。ミオシンの蛋白分解酵素による分解産物であるH-メロミオシンはATP分解能とアクチンとの結合能をもつ。しかし生理的塩環境においてもアクチンと作用してATP存在下に起沈澱を起す能力はない(第1表参照)。このHメロミオシンは生理的塩環境においても完全に溶解しており凝集能力はない。それではなぜミオシンの凝集能が必要か。一つの可能性として凝集した結果できるある高次構造が有効である場合が考えられる。この高次構造の中でミオシンのATP分解とかアクチンとの結合とかを行う活性点のうまい配列ができていないか。1ヶの活性点がアクチンと相互作用するのみでは単なる解離と再結合が起るにすぎず、多くの点同志で秩序だった相互作用をして始めて“収縮”が起るのではないか。

In vitro のミオシンは濃い塩中でよく溶解した状態で分子量約400,000とか600,000とかの棒状分子といわれ、分子量200,000に1ヶのATP分解活性点¹⁶⁾をもつ。第14図はミオシン構造の最新のモデルである。これからみて生きた筋中のThickフィラメントは非常に多くのミオシン分子でできている。しかも電子顕微鏡像はThickフィラメントがミオシンのらせん状重合体であることを強く示唆する。アクチンとの結合点がフィラメント上にらせん状に配列しているというのである。前節に考えた収縮機構では、収縮のためにはアクチン、ミオシン両フィラメントのある部分で同時に少なくとも2点以上の相互作用がなければならない。

かくして1ヶ1ヶの蛋白分子が相互作用するのはなく、互に高級な構造に作り上げられた蛋白同志が相互作用して、収縮という機能が生れる。ATPは高次構造体としてのミオシンとアクチンの相互作用を仲介

第14図
ミオシンのモデル

して特殊な方向づけられた結合の集りを作らせる作用をもつのではないか。そのために、両蛋白は元来かたく結合する性質をもちながら ATP でなければ起沈澱を起しえないのではないか。生理的塩環境においてのみミオシンの ATP 分解活性が (Mg^{++} 存在下) アクチンによって増加し、特に起沈澱時に ATP 分解が甚しく速やかになるという事実も上の観点から見なければならぬであろう。ミオシンの 3 機能: ATP 分解, アクチンとの結合, ミオシン自身の凝集のうち、第 3 のものが非常に Labile であるといわれる。実はこの機能が“収縮”においてきわめて重要なのではないか。イオン環境がこれを通じて効く可能性がある。最初に、アクトミオシン系の ATP による収縮とか起沈澱とかの内容が、Sliding か Folding かあるいはまた他のものかを明らかにする実験はまだ行われていないとのべた。上の事情、ミオシンの凝集能が収縮に不可欠なことが本当ならば、このような実験は極めてむづかしい。すなわち収縮の分子的内容を解析するための種々の物理的測定手段は溶解状態ではよく適用できても、凝集状態では大概適用できない。この矛盾をいかに克服するかは研究の今後の発展の重要な鍵であり、こういうところに、生きている現象解明の困難さが顔を出してくる。

これまで生体の高次構造によって始めて高次の機能が生れることを強調してきたが、これに関して筋の場合、忘れることのできないのは、荷重と収縮速度及び発生熱との関係である。¹⁵⁾ 荷重の変化に応じて収縮速度は速やかに調節され、大きな仕事をしようとするときは自然に多くの化学変化を起す。収縮により発生する熱は普通の摩擦熱とは異なり、収縮距離によってきまり、そのときの収縮速度によらない。こういう自動調節の機能が何によるか。もちろん、単純な高分子電解質ゲルモデルや、高分子結晶融解モデルはこういう機能をもたない。くわしく論ずる余裕はないが Sliding Theory をとるにせよ、Folding Theory をとるにせよ、結局は筋の 2 重フィラメント構造³⁾が決定的役割をしていると考えられている。

11. 筋蛋白と蛋白一般

最後に筋蛋白特にアクチンの性質は独特なものではあるけれども、蛋白一般の研究についていろいろの示唆を与えることをつけ加えよう。具体的に 3 つの点を指摘したい。第 1 はアクチンは酵素として酵素作用の機構の研究のための好個の材料であることである。酵素は元来、自ら変化せずに基質を変化せしめるものとされていたが、近来、酵素作用発現の際に必ずあるで

あろう酵素自身の変化がどういう内容かが問題になっている。アクチンは ATP 分解という作用とともに自分自身の大変化、重合、を伴う。あるいは見方をかえればアクチンは分子相互が衝突 (乃至結合) している状態でのみ酵素作用をもつ。状態変化が酵素活性変化を生む。しかも状態変化は物理的測定によって明確に捉えられるようなものである。この状態変化は外力によっても起される故に、外力たとえば音波場が酵素作用を促進することにもなる。こう考えるとアクチンは酵素作用の機構を明らかにするための対象としてすこぶる有用であることがわかる。

次にアクチンの G-F 変換は種々の蛋白の分子間構造生成の 1 つの典型的な例¹⁰⁾である。アクチンの他にも多数の蛋白が重合体を作る。インシュリンの重合はいろいろの点でアクチンのそれに似ている。その重合のための核は第 6 図にあると同様のものと考えられている。ただインシュリン重合体は 1 次元のだけでなく横へも成長する。フィブリン、コラーゲン、その他の重合にもアクチンと類似の点がみられる。これらいずれの場合も広い意味でのらせん状重合体を作りうるらしい。アクチン以外には重合の熱力学的平衡論的解析と速度論的解析とが併せて綿密に行われた例がほとんどない。このような解析が行われることによっていろいろの蛋白重合体の高次構造やその意義について重要な知識がえられるのではなからうか。アクチンの場合、重合に ATP 分解を伴うのが特殊に見えるが、フィブリンノーゲンがフィブリン重合体を作るとき、小ペプチドを遊離するのと似ているともいえる。

もう一つ、ぜひ注意したいのは、アクチンと細胞分裂の際現われる分裂装置の蛋白との相似である。²⁰⁾ 分裂装置のたとえば紡錘体は多くの粒状蛋白のフィラメント状に重合したものと信ぜられる。分裂の適当な時期で行われた、温度とフィラメント量との関係は、アクチンの G-F 平衡と温度との関係に非常によく似ている。それからみると分裂装置のフィラメントの生成は凝縮型反応であるらしい。また、F アクチンはある濃度以上になると自然に平行に並んで一つの相を作ることが知れており、しかもこの並ぶ方向が、低分子イオンの濃度勾配によって規定できることも見出されている。^{10d)} このことは分裂装置の形成過程について興味深い示唆を与える。

このように見てくると、単位蛋白が重合して高次構造を作ること生命現象全体には非常にしばしば現われることで、あるときにはそれが非可逆に起って永久的な構造となり、あるときには、可逆的に起り、むし

ろその構造の変化が生体の一つの機能となる。

結びに、ここにのべてきた内容には、いまだに多くの研究者の容認していないことや、筆者個人の意見が多く、非常に Speculative で、かつ一方的であったことをお断りしたい。ミオシン、アクトミオシンの *in vitro* の物理化学、酵素化学の詳細、収縮弛緩のきっかけをあたえる因子は何か、などの問題から、平滑筋の収縮性、さらに、粘菌等に見られる原形質流動の問題、また一方では分子構造論のレベルに至るまでひろく分析することが筋収縮あるいは生体運動の基本的機構の解明に絶対に必要なことはいうまでもない。

文 献

- 1) A. Szent-Gyorgyi: Chemistry of Muscular Contraction. (1951) Acad. Press 等
- 2) H. Huxley: Sci. Amer. 199, 67 (1958), A. Huxley: Prog. in Biophys., 7, 257 (1957), H. Huxley & J. Hanson: "Muscle" Vol. I, Acad. Press. (1960) 等
- 3) R. Podolsky: Ann. N. Y. Acad. Sci., 72, 522 (1959)
- 4) A. G. Szent-Gyorgyi & H. Holtzer: Biochim. Biophys. Acta, 41, 14 (1960), S. Perry & A. Corsi., Biochem J. 68, 5 (1958) 等
- 5) W. Kuhn, A. Ramel, et al: Fortschr. Hochpolym. Bd. 1, 540 (1960); A. Katchalsky: Prog. in Biophys., 4, 1 (1954); P. Flory: Science, 124, 53 (1956); 大沢 物理学会誌: 15, 571 (1960).
- 6) F. Oosawa, S. Asakura, & T. Ooi: Prog. Theor. Phys. Supplement (1961)
- 7) F. Straub: Studies Inst. Med. Chem., 2, 3 (1942); G. Fever & F. Straub: Biochim. Biophys. Acta., 4, 455 (1960); W. Mommaerts: J. Biol. Chem., 198, 467 (1952) 等
- 8) F. Oosawa, S. Asakura, K. Hotta, N. Imai, & T. Ooi.,

- J. Polym. Sci., 37, 323 (1959), Proc. Int. Conf. Muscle Contraction. Tokyo (1957) p. 57; T. Ooi., J. Phys. Chem. 64, 984 (1960), B. Asakura & F. Oosawa: Arch. Biochem. Biophys., 87, 273 (1960); S. Asakura, M. Kasai, & F. Oosawa; J. Polym. Sci., 44, 40 (1960); M. Kasai, H. Kawashima, & F. Oosawa.; J. Polym. Sci., 44, 51 (1960)
- 9) A. G. Szent-Gyorgyi et al: Biol. Bull. (1960); J. Gergely. et al: J. Biol. Chem., 235, 1700 (1960)
- 10) a) H. Kasai & S. Asakura. による. b) T. Ooi による. c) M. Kasai による. d) H. Asai による. e) S. Asakura: Biochim. Biophys. Acta: in press. f) S. Takashima & M. Kasai による. g) T. Onishi による
- 11) C. Selby & R. Bear: J. Biophys. Biochem. Cytol., 2, 7 (1956), G. Rosza, A. Szent-Gyorgyi, & R. Wyckoff: Biochim. Biophys. Acta: 3, 561 (1949).
- 12) a) T. Tsao; Biochim. Biophys. Acta, 11, 227 (1953). K. Bailey. Symp. Soc. Exp. Biol., 9, 183 (1955)
- 13) a) R. Strohman to be published, b) S. Asakura. Arch. Biochem. Biophys. (1961) c) S. Ebashi; J. Biochem. 48, 151 (1960).
- 14) M. Spencer & C. Worthington: Nature. 187, 388 (1960)
- 15) J. Gergely et al: J. Biol. Chem., 235, 1707 (1960), R. Strohman: Biochim. Biophys. Acta, 32, 436 (1959), K. ragi & L. Noda, Biochim. Biophys. Acta, 43, 249 (1960)
- 16) W. Kielley & Harrington: Biochim. Biophys. Acta: (1960)
- 17) Y. Tonomura.; Yoshimura. Arch. Biochem. Biophys. 90, 73 (1960).
- 18) A. Hill: Proc. Roy. Soc., 139, 464 (1952) "Molecular Biology" Acad. Press. 17, (1960) K. Podolsky, Nature (1961)
- 19) D. Waugh: Rev. Mod. Phys., 31, 84 (1959); H. Scheraga & M. Laskowski, Adv. in Protein Chem., 14, 1 (1959), J. Ferry. J. Cell. Comp. Physiol. 49, 185 (1957)
- 20) S. Inouye: Rev. Mod. Phys. 31, 402 (1959), H. Weber: The Motility of Muscle and Cells Harvard Univ. Press (1958); P. Mazia. Symp. Soc. Exp. Biol. (1955)
- 21) たとえば筋化学 (熊谷編纂, 医学書院) (1958): 殿村. 蛋白質化学 (1958), 生化学 No. 3 (1961) 等

網膜の電気生理

東北大学・医学部生理学教室

本 川 弘

※

い と ぐ ち

網膜は、光のエネルギーを電気のエネルギーに換える装置である。最初にかかる反応が光化学反応であって、これは受容器（視細胞）でおこる。視細胞には杆体と錐体とある。杆体は暗所視に、錐体は明所視に関係するといわれている。視細胞は双極細胞とシナプスを作り、双極細胞は神経節細胞とシナプスを作っている（図1）。後者の軸索突起が視神経にほかならない。以上は縦の連絡であるが、そのほかに複雑な横の連絡がある。これに関与する細胞に水平細胞、アマクリン細胞などがある。しかし、それらの機能については不

明の点が多い。水平細胞は神経要素ではなく、グリヤの一種であろうと考えている人さもある。要するに網膜の複雑さは脳に匹敵する。網膜は発生学的には脳の一部である。

光化学反応と光覚閾

光の感覚の閾値は光化学反応によって規定されと考えられる。暗順応状態にある網膜の周辺に光があつたときの光覚閾は著しく低いものであるが、同時に光覚閾の動揺が基だしい。殊に短い閃光を用いたときそうである。

従来は、杆体の光感受性がそのように動揺するので