タンパク質とイオンとの相互作用

—筋肉収縮時のイオンの役割を含めて—

Na と K, Ca と Mg を鋭く見分けられるということは、生物が生物として存在する基盤の中で、最も重要なものの一つである。神経の機能も、筋肉の収縮も、みなこの基盤の上に立っている。この性質は、誰しも予想するとおり、その大部分がタンパク質に依存することは、疑いを入れない。他方、タンパク質とイオンとの関係は、合成高分子電解質に対する研究方法で処理しうる面のあることも事実である。しかし、だからといって、そういったアプローチを精密化することによって、問題が解決すると思ったら、あまりにも、生き物を見くびったことになる。タンパク質は、まだ完全には、化学的物質になりきっていないようである。

江 橋 節 郎*

1. はじめに

タンパク質とイオン相互作用は、普通の高分子電解質と低分子イオンの相互作用として考えられる面と、そのような一般的な説明では理解しえない面とがある。前者も生物現象の基礎として重要な意味をもつことは当然であるが、生物学的立場からは、後者のような事例の方に、多くの関心をもたれるのは当然のことであろう。このシリーズにおける他の執筆者は、いずれも高分子の物理化学の専門家であり、格調高い論文をものさされることと思うので、本態不明の生物的な問題を扱った本稿は、シリーズ中の息抜きと考えていただきたい。

生きている細胞の特徴の一つは、外環境と異なったイオン組成をもちうることである。たとえば大部分の動物の細胞形質は、Na を主成分とする外液（高等動物では血漿およびリンパ液、海産の下等動物では海そのものがこれにあたる。）と異なり、K を主成分としている。神経機能の基盤をなしている電気現象は、こ

の内外のイオン分布の違いを巧みに利用したものである。また、大部分の細胞内部には、Mg は高濃度に存在するにもかかわらず、遊離の Ca イオンの濃度はゼロに近い。後述するように、筋の収縮に Ca が引き金物質として用いられるのも、細胞のこの基礎的な性質に根拠をおくものである。

このように、Na と K, Mg と Ca を鋭く見分ける性質——それは生命の基本的な性質の一つであるが——が、それに関与するタンパク質のイオンに対する特異的な親和性に依存することは当然予想されることである。以下そのような実例の二、三をあげて、生物というもののからくり、あるいはやり口といったものを探ってみたいと思う。

2. タンパク質とアルカリイオンの相互作用

細胞がその内外に異なったイオン環境をもつためには、Na を追い出し、K を取り込むという、いわゆる Na・K・能動輸送と呼ばれる機能をもたなければならない。これは、ほとんどすべての動物細胞に共通な機能であり、細胞が生きているということの一つの重要な指標である。この機能が形質膜に存在する、いわゆる Na・K-ATPase という一種の酵素によって行なわれているということは、いまや異論の余地がない。現在考えられているところでは、この酵素は形質膜の構

* Setsuro EBASHI 東京大学（医学部薬理学教室、理学部物理学教室（併任） 113 東京都文京区本郷 7-3-1）教授・医博

Interaction of Protein and Ions with Particular Reference to the Role of Ion in Muscle Contraction.

成分として存在し、第1表のスキームに示されるような機構で、Na と K の能動輸送が行なうものとされている¹⁾。もちろんこのスキームは確定的のものでないが、重要なことは、Na⁺ および K⁺ に対する親和

第1表 Na・K-ATPase の機構を示すスキーム

第2表 K⁺ 活性化酵素

酵 素 名	関与するリン酸化化合物
L-malate-NAD oxidoreductase ^{a)} (malate dehydrogenase)	NAD
aldehyde dehydrogenase	NAD
acetyl-CoA-orthophosphate transferase (phosphate acetyl transferase)	NAD P
ketohexokinase ^{a)}	acetyl リン酸
methionine-adenosyl transferase	ATP(ADP) ^{b)}
tyrosyl-sRNA synthetase	ATP
acetyl-CoA synthetase	ATP (AMP)
panthothenate synthetase	ATP (AMP)
NAD synthetase	ATP (AMP)
phosphoribosyl-formyl glycineamidase synthetase	ATP (ADP)
phosphoribosyl-aminoimidazole synthetase	ATP (ADP)
phosphoribosyl-aminoimidazole carboxamideformyl transferase	ATP (ADP)
myosin ATPase	ATP (ADP)
p-nitrophenylphosphatase ^{c)}	p-nitrophenyl リン酸

a) K⁺ がなくてもある程度活性がある酵素

b) カッコ内は ATP の転化物を示す

c) 本文参照

性が基質である ATP との反応の過程においてのみ見られ、ATP の存在しない場合の酵素そのものは、これらのイオンに対し、なんら特殊な親和性をもっていないことである (もっともこの親和性は kinetics によって指摘されたもので、結合が直接証明されたものではない)。

このように、Na・K-ATPase はきわめて特異な性質をもつ酵素として、他の酵素から別格視されがちである。しかし、酵素群を調べてゆくと、Na と K を区別することのできる酵素がいくつかあることに気づくであろう。(第2表)。こういった酵素は、次のよう

な特徴をもっている。

i) K⁺, Rb⁺, NH₄⁺ が著明な活性化作用を示す (NH₄⁺ が最も著明な作用を示すことが多い)。

ii) Na⁺ はほとんど活性化作用を示さないばかりでなく、K⁺ などによる活性化作用を原則として抑制する (Li⁺⁺ はわずかながら活性化作用のある場合が多い)。

iii) 基質または補酵素として、高エネルギーリン酸結合を含む化合物が関与している。

このように K から Na を区別できるということは、この種の酵素が Na・K-ATPase の一部分、第1表のスキーム¹⁾において、左半分と共通の性質をもつものと考えることができる。このことが、単なる偶然の一致でないことは、Na・K-ATPase (あるいはこれとわかちがたく結合した酵素) が p-ニトロフェニルリン酸を分解し、その際のイオンとの関係が上記の酵素群と全く一致するという事実によってある程度裏づけられよう。

以上のような酵素作用にみられるイオン特異性の基礎となるタンパク構造を明らかにすることは、生物学の立場から重要、かつ魅力的な課題である。ただし、第3表にみるように、このような性質がすべての基質について成立するのではなく、特殊な基質においてのみ見いだされることは、その基本となる構造もしくは、反応がきわめて微妙なものであろうことを示唆するもので、単純な物理化学的解析で究明しうるものと

第3表 Na・K-ATPase およびミオシン ATPase の基質特異性

	Na・K-ATPase	K-EDTA-ミオシン	ATPase ^{a)}
ATP	(1)	(1)	
GTP	~0	0	
ITP	~0	0	
CTP	0.23	0.37	
UTP	~0	0.13	

a) K による活性化は Mg によって妨害されるので、EDTA を加えた条件下で測定する

江橋節郎氏 昭和19年東京大学医学部医学科卒業。専門分野は基礎医学。現在、筋収縮弛緩に関する研究に従事。

は思われない。

ミオシンについては、アルカリイオンとの結合性が測定されているが、予想どおり、

というような系列が得られているが、とうてい酵素作用におけるイオンの特異性を説明しうるようなデータではない。これも第3表の結果から考えれば、当然のことであろう。

最後に一言ふれておかなければならないのは、脂質、とくにリン脂質の問題である。細胞膜における脂質の役割が重要であることはいうまでもないが、このことからイオンの選択性をリン脂質に求めようとする考え方も少なくない。このことに関して最近、抗生物質中の一つのグループとしてのイオノフォア (ionophore)——細胞膜の脂質と結合してイオンの透過性を選択的、非選択的に増加させる——が注目されはじめ、脂質の役割がより強調されるようになった。しかし、このことはイオンの選択性を脂質だけになうということの意味するものでないことは、いうまでもない。

なおこれに関連して、イオノフォアによる選択的透過性は、アルカリイオンについていえば、今のところ K (および Rb) イオンにのみ限られており、酵素群の場合とよく一致する。このことから明かなように、Na に関する問題は、どうも純粋タンパク系や人工系では試験管内で再現されているとはいえない。その意味では、第1表の右半分の反応は、生物の神秘性をともかくも残した領域であるということが出来る。Na に関しては、脂質の関与ということが、あるいはより重要であるということかもしれない。

3. アルカリ土類イオンと酵素作用

アルカリイオンに見られたような現象が、アルカリ土類イオンについても認められる。むしろ酵素作用には2価イオンを必要とするものが普通である。これに二つの場合のあることがわかる。

i) 基質とコンプレックスをつくる場合——すなわち、イオンと狭義の基質のコンプレックスが真の意味での基質である場合である。リン酸化合物が基質として働く場合は、ことに高エネルギーリン酸結合をもつ化合物の場合では、ほとんどすべて、Mg を必要とするが、これはこのケースにあてはまる。

ii) 基質と酵素のコンプレックスが特定のアルカリ土類イオンに親和性をもつ場合——Na・K-ATPase に対比される Ca-ATPase (すなわち筋小胞体の Ca のくみ上げ機構) の場合がそれであって、Mg

・ATP の存在下にもみ Ca に対する親和性が生ずる。しかし、このことは、Ca の結合点が必ずしも酵素活性部分と異なるということを意味しない。

以上いずれの場合も基本的にはアルカリイオンの場合と同じように酵素-基質複合体の問題であり、タンパク質自体のイオン親和性は基本的には意味をもたないということである。

4. 生物的に意義をもつタンパク質とアルカリ土類イオンの結合——トロポニンの Ca 結合

はしがきにも述べたように、筋の収縮の直接的誘起物質は Ca である。神経から筋細胞に化学的物質によって伝えられた情報は、筋細胞膜で再び動作電位と呼ばれる電気的現象(興奮現象)となり、この電気的影響が、Ca の貯溜槽である筋小胞体 (3. ii) 参照) からの Ca の遊離をきたす。この Ca が収縮系に作用するのであるが、この際 Ca は、収縮タンパク質といわれるミオシン、アクチンのいずれかに作用するのでなく、アクチンフィラメント上に存在するトロポニンというタンパク質に作用し、これからの情報が、トロポミオシンを介してアクチンに伝えられ、ここに二つの主要収縮タンパクの相互作用が起こるものであることが明らかにされてきた²⁾。

今少し詳しく述べると、アクチンフィラメントは第1図のような構造をしていると考えられる。トロポニンは、直接アクチンにはつかず、アクチンに親和性をもつ繊維状タンパク質トロポミオシンの上に存在する。現在考えられているところでは、Ca の存在しないときは、トロポニン^{*1}はトロポミオシンを介してアクチンフィラメントにミオシンフィラメントとの反応が起こりにくいような制御をかけている。(藤目、石渡³⁾によれば、アクチンフィラメント全体が異常にかたくなった状態にあるという。また Huxley ら⁴⁾によれば、Ca の存在しないときに起こるトロポニンのコンホメーションが、トロポミオシンの位置をわずかに

第1図 細いフィラメントの模型図

アクチンフィラメントとトロポニン、トロポミオシンの立体的関係を示す。

*1 トロポニンは現在分子量 17000, 22000, 38000 の三つの成分からなることが示され、このうちトロポニンAと称される分子量 17000 の成分が Ca に強い親和性をもち、Ca の脱着により著明なコンホメーションの変化を起こすことが明らかになっている。

ずらし、アクチンがミオシンと結合する部分を立体的にじゃましているのだという)。トロポニンに Ca が結合するとトロポニン分子に構造変化が起こりトロポミオシンを介してアクチンに与えられていた抑制が除かれる(藤目、石渡によればアクチンフィラメントは柔軟性を回復するという。また Huxley によれば、トロポミオシンがミオシンとの反応をじゃましない位置にひきさがることになる)。このように間接的な手法によって生きた筋の収縮系の制御が行なわれているわけである。あらかじめ抑制をかけ、それをはずすことによって活性化を行なうことには、広く生物界に見られる現象であり、瞬時に応答しなければならない機能には適した方法であるには違いない。

予期されたことであるが、トロポニンの Ca に対する親和性はきわめて特異的なもので、第4表に示すように Mn, Co, Ni などの遷移金属にはほとんど親和性がない。EDTA などのキレート物質は遷移金属に対して、Ca などによりはるかに高い結合定数をもつことはよく知られたことであり、カルボキシル基およびアミノ基を配位子とすると考えられるタンパク質が、そういったキレート剤と著しく異なった行動をとることは、一般的には考えにくいことである。事実多くのタンパク質は EDTA ほどではなくても、アルカリ土類よりも遷移金属に対して、多少とも高い結合定数をもつのが普通である。したがってトロポニンがなぜこのように Ca, Sr にのみ高いキレート定数をもつのかは化学的にも興味のある問題であり、構造の解明がまたれるところである。

最近、収縮系と同様の低い Ca 濃度によって活性化される酵素が知られてきた。これは前節に述べたタイプの金属親和性と異なり、むしろトロポニン型のものと考えられる。おそらくそれらの酵素は複合タンパク質であり、トロポニン様部分が、アロステリックに酵素活性部分の構造を制御するものと考えられる。

5. 生理的に重要なタンパク質——イオン相互作用機構解明へのアプローチ

以上述べてきたような生物学的に重要なタンパク質とイオンの相互作用を分子レベルで追求するにはどうしたらよいかということは、われわれ生物屋にとっても重要な問題である。この点についての成果はいまのところきわめて微々たるものがある。従来の高分子物理化学で用いられてきたような手法は、端的にいってあまり有力でなかった。それは、従来の方法が、分子全体の平均的な挙動を測るものが多かったからであり、この系列に属する測定法は、今後いかに精度が増しても、あまり成果は期待できないであろう。

もちろんどのような方法がよいか、どのような新し

第4表 トロポニンの各種2価イオンに対する親和性(結合定数の比)

Ca	(1)
Cd	0.08
Sr	0.04
Pb	0.02
Mn	0.01
Co	0.003
Ni	0.002
Ba	0.002
Mg	<0.001
Zn	<0.001

い方法が生れてくるだろうかということを語る資格は著者にはない。ただ一ついえることは、形態的にも化学的にも、なんとかして分子を見ることが結局は王道ではないのだろうか。たとえば、タンパク質ならば全構造を決めることがなによりも近道であるように見える。最近前述トロポニンの作用機構に関して、電子顕微鏡像からの影像強化法による三次元再構成法が、従来の方法になかった成果をあげようとしている。この方法自体は、上記のような考え方から見れば、まだ過渡的なものではあるが、やはりその方向をみざしたものが成功を収めつつあるという点で注目すべきであろう。

6. むすび

以上、アルカリあるいはアルカリ土類イオンに限って見ても、タンパク質には化学的に近縁のイオンを識別する能力があり、それがタンパク質の生理的機能の基盤となっている場合のあることを示してきた。その機構は次のようなパターンに分けることができよう。

- i) タンパク質自体に特定のイオンに対する親和性があり、それがそのままその機能の基礎となっているもの——例、トロポニンの Ca 結合
- ii) 酵素としてのタンパク質がその酵素反応過程において特定のイオンに対し親和性をもつもの。
 - a) 基質が特定イオンとコンプレックスをつくって初めて真の基質となりうる場合——例、リン酸関係酵素と Mg
 - b) 基質と酵素のコンプレックスないし中間体が特定のイオンに対し、親和性をもつ場合——例、能動輸送 ATPase

文 献

- 1) R. W. Albers : *Annu. Rev. Biochem.*, **36**, 727 (1967)
- 2) S. Ebashi, M. Endo, I. Ohtsuki : *Quart. Rev. Biophys.*, **2**, 351 (1969)
- 3) S. Ishiwata, S. Fujime : *J. Mol. Biol.*, **67**, 1 (1972)
- 4) T. Wakabayashi, H. E. Huxley : 私信