生体膜

生体の超分子構造と機能

宝谷 紘一

Hirokazu Hotani, 帝京大学理工学部

はじめに

生体超分子とはどのようなコンセプトであるのか、なぜに「超」がつくのか、現在いかなる方法で研究されているのか、将来どのような応用が考えられるのか、これらの点について、細菌フラジェラと微小管の具体的な研究例をあげながら簡単に述べてみたい。

1. 生体構造としての超分子

1-1. 生体機能素子

生体が階層構造をしていることはよく知られている。個体は器官の有機的な集合体であり、器官は組織からなり、組織は細胞によって構成されている。細胞こそが生物の基本単位であり、自己増殖能をもっている。したがって、生命の精緻かつ巧妙な営みの基本的な仕組みを解明するためには、細胞より下の階層について研究する必要がある。細胞内には種々の細胞内器官（オルガネラ）や超分子が存在し、それらは細胞の自己複製、エネルギー変換、情報交換などの高度の機能を遂行している。超分子は、数個から数千個の生体高分子が非共有結合で結ばれて生じる機能単位である。その構成分子は主としてタンパク質であるが、時には核酸分子や脂質分子も含むことがある。複数個の分子が結合することによって、より複雑な構造が形成されることはもちろんであるが、さらに重要なことは、1個の分子にはみられないような高度な機能を獲得するようになる点である^{1)~3)}。この点で、超分子は生体分子より上の階層にあるといえる。つまり、生体分子は構造的にも機能的にも化学物質として取り扱えるのに対して、超分子は生きもののもつ物性をもち始めた構造だといえる。

1-2. 超分子の特徴

これらの超分子に共通している特質は、その構成分子自身が完成した構造に関する情報をもっていること

である。したがって、構成要素一式がそろえば、複雑な構造の超分子といえども自己組織的にでき上がっていくのである。この構造形成の様式を自己集合とよぶ。

超分子は決定論的な動作形式だけではなく、周辺環境や状況の変化に応じて機能を修正し適応動作することが可能である。超分子内部の協同的構造変化を通して、その機能を自ら制御する仕組みになっているのである。

1-3. 超分子化による高度機能獲得

さまざまな超分子の例が図1に示されているが、その二、三の例を引いて、超分子による機能獲得についてもう少し具体的に述べる。よく知られているヘモグロビンは、4つのタンパク質サブユニットから成る単純な超分子の一例である。生体内で酸素分子を運搬する機能を担っているが、そのサブユニットに酸素分子がつくと、残りのサブユニットにも酸素分子がつきやすくなるという協同的な性質をもっている。このためにヘモグロビンは、比較的酸素濃度の高い肺において十分に酸素を吸着することができるのである。この協同性は逆のいい方をすれば酸素分子が1個はずれると他の酸素分子もはずれやすくなることを意味する。つまり酸素濃度の低い末端組織においては、酸素分子はヘモグロビンから容易に離れることができる。このように血液にとって本質的に重要な、酸素吸着の協同性という機能は、4つのサブユニットが集合体を形成す

宝谷紘一 帝京大学理工学部
(320 宇都宮市長岡町西北山
1189) 教授、理博

1963年神戸大理学部物理学科
卒、1969年名大大学院理学研
究科修了。1971年京大理学部
助手、1980年助教授、1989年
より現職、新技術開発事業団超
分子系構造プロジェクト総括責
任者。生体分子集合体のダイナ
ミックスを中心に研究。

超分子の構成要素は主としてタンパク質であるが、ここでは核酸を含んでいるウイルスや、脂質を含む生体膜も示されている。図の拡大率はそれぞれ異なっている。

図1 さまざまな超分子

ることによって初めて発揮されるのである。

複雑な超分子であるリボソーム(図1)は、メッセンジャー RNA の情報をアミノ酸配列に翻訳してタンパク質を生成する役割を果たしているが、その間に極めて多くの化学反応や分子の移動が緊密に関連しながら進行する。各反応ステップに関係している数十種類のタンパク分子があり、それらが数本の RNA と一緒になり自己集合原理によって構築されて、分子レベルの化学工場ともいえる複合体を形成する。このような高度な機能は、それぞれのタンパク分子が分散しては不可能であり、超分子となって初めて可能になる。

2. 超分子の研究法

2-1. 挙動の映像化

生体における著しい特徴に、その形態や構造が機能と密接に結びついていることがあげられる。このことは、生体分子のレベルにおいてもしかりである。一般に超分子が働くときには構造が変換し、形態が変化する。

超分子の機能メカニズムを知るためには、超分子が実際に機能し、形態変化している様子を分子レベルで刻々と映像化できれば理想的である。つまり1個1個の超分子の挙動を調べることが機能の理解の早道なのである。これは従来の物理化学的測定法では不可能なことである。これらの測定では膨大な数の超分子の平均化された挙動しかわからないからである。

分子レベルでの映像化は、当然さまざまな電子顕微

鏡技術に依存することになる。しかしながら、超分子の際立った特徴は、環境変化に対して敏感に感応し、それに適応する能力を備えていることである。この能力は、生体の個体レベルから分子レベルに至るまで貫かれている。生命現象が外界との物質やエネルギーの変換を伴うダイナミックな現象である以上、生体の感応力は不可欠な性質である。このことは逆にいえば、環境や溶液の微妙な変化でも生体超分子の構造に大きな変化をもたらす結果になる。同じ構造決定でも、生体物質と非生体物質では観察条件に関する要求が大きく異なるのである。したがって、超分子の映像化は、できるだけ生体内に近い環境のもとで、動的であることが望ましい。

2-2. 光学顕微鏡法

各種の電子顕微鏡による観察法は、解像力の点で他の追従を許さないすばらしい映像技術であるが、上記の“環境”と“動的”という2つの重要な条件をいまだ克服しえていない。そこで、解像力の点では不満ではあるが、生理学的溶液中でダイナミックな挙動を観察できる光学顕微鏡を用いることにした。最近の光顕技術の改良は目を見はるものがある。超分子の中でも巨大な部類に属するものを観察する場合には、暗視野法のほかに蛍光法やビデオエンハンス法(映像処理によって微妙なコントラストを増幅させる)、微分干渉法などが用いられる。

一般に使われている光学顕微鏡法である明視野法や位相差法では、どんなに高級なレンズを使っても、太さ 20 nm の線維状超分子は観察できない。暗視野法

フラジェリン分子の2状態が白と灰色で表わされている。直線型 (a)、左巻きらせんのノーマル型 (b)、右巻きらせんのセミコイルド型 (c) が示されている。

図2 細菌フラジェラの分子構築模式図

では高輝度光源を使うことによって、容易にそれらを観察することができることがわかった。しかし、細い線維を見えるという点では、蛍光法を使えば太さ2 nmのものも見えてくる。ところが、多くの細胞内超分子は十分に蛍光染色すると、機能を失ったり構造が変化したりする。暗視野法の最大の利点は、観察に一切の前処理を必要としない点である。無処理の生状態の超分子の3次元形態を見ることができる。

3. 形態変換超分子：細菌べん毛

3-1. 3次元の形態

暗視野法によって詳しく研究された一例として、細菌フラジェラを取り上げる。フラジェラはらせん形をした直径20 nmの細い線維で(図2)、細菌はこれを水中で回転させて推進力を発生させ、前進運動している。フラジェラはフラジェリンとよばれるタンパク分子が、極めて規則正しく筒状に集合した超分子であり、この筒が単なる直筒ではなく、らせん状をしているところから興味ある性質が生じる。暗視野光顕観察

の場合は、生のフラジェラが溶液中で3次元の形態を保っているため、らせんのピッチや巻き方向を決定することができる。フラジェラにはノーマル、カーリーなどと名づけられた形の異なる数種類の安定な型があり、フラジェラは常にそのうちのひとつの型をとり、それらの中間型はとらない。そして、ノーマル型は左巻きらせんであり、カーリー型は右巻きらせんであることがわかった。さらに、2種類のらせんがつながるとき、らせん軸どうしがなす角度が一定であることもわかった。このことから、フラジェラに組み込まれたフラジェリンの内部状態に関する重要な情報が得られた。すなわち、図2のフラジェラ断面状の1個のサブユニットがフラジェリンを表わしているが、これらは同一のタンパク質である。しかし、これらのサブユニットの立体構造は厳密には同一ではなく、断面上の位置によって2種類以上の“構造状態”があると結論された。この情報も試料の形態的変形が起きない光顕観察によるおかげである。

3-2. 構造変換

前述のフラジェラは、環境に応じてダイナミックに形態変換する。pHや塩濃度などを連続的に変化させていくと、フラジェラは非連続的に次々と数種の型をたどって変換していく。左巻きらせんは、ピッチの小さいコイルド型になり、続いて右巻きらせんに変換する。

らせんは幾何学的に曲げとねじりの2つの量によって記述される。フラジェラに組み込まれたフラジェリンに2状態があることと、環境に応じてこの2状態の相対比が変わることを仮定することによって、フラジェラの曲げとねじりの非連続的な変化を説明できた(図2)。超分子の形態解析からサブユニット間の相互作用がわかったユニークな例である。各ステップの形態変換は顕著で、その映像は劇的でさえある。しかし驚くべきことに、これらの大きな形態変換は、フラジェラ中のフラジェリン分子の相互位置が、わずか1~2度ねじれることによって生じるのである。タンパク分子間のごくわずかな相互作用の変化を、超分子を構築することによって、大きな形態変化として増幅しているのである。

4. 多機能超分子：微小管

微小管は細胞中で細胞骨格や紡錘体を構成、輸送や運動にも関与する多機能超分子である。チューブリンとよばれるタンパク質がその構成ユニットであり、そのチューブリンが規則正しく重合して太さ25 nmの管状重合体になったものが微小管である(図1)。微小管は重合・脱重合過程を通じて、その機能を変換す

(c) 微小管の時間的変化の光顕ビデオ記録。(a) は微小管の上端の、(b) は下端の位置の変化。(a) の数字をつけた点は(c) のそれぞれのビデオ像に対応する。△は同視野の他の微小管の挙動。

図 3 微小管の動的不安定性

る。

最近、個々の微小管の動的挙動を映像化することによって、微小管の極めてユニークな形成・分解過程がわかってきた。すなわち、定常状態においても微小管の長さは一定ではなく常にゆるやかな伸長と急速な短縮を繰り返しているのである(図3)。つまり微小管には重合相と脱重合相の2相があり、この2相間を相互転移している⁴⁾。いいかえれば、同一サブユニット濃度の下で重合と脱重合反応が共存できるのである。

平衡重合反応に反するこの仕組みは GTP 分解のエネルギーを利用して遂行される。ところで、微小管結合タンパクを共存させるとこの反応は平衡重合として振る舞い、長さの変化は全くみられなくなる。

この現象は動的不安定性とよばれ、超分子の新しい性質として注目を浴びている。このような巧妙な仕組みによって生体構造のドラスチックな相互変換が可能になっているのである。

5. 超分子の応用

超分子の機能は柔軟である。すなわち課せられた役目や環境に応じて、その特性を変えることができる。融通がきくのである。時には形式や分解過程をも通じて適用しようとする。一方、構成素材はタンパク質であるから、無機材料のように半永久的というわけにはゆかない。したがって、生体内では壊れた部品は自動的に取り換えられて自己修復され、システムとしての動的安定性が保たれている。

ところで、超分子は極めて高い集積度をもつ。LSI に比べても平面密度で $\sim 10^5$ 倍以上の集積度である。このようなハイレベルの微細加工技術としては自己集合方式が不可欠になる。また、膨大な素子からなる高級なシステムを維持するためには、絶対無故障の安定性は至難となり、代わって故障と修復を前提とした動的安定性が重要になってくる。

従来の技術は速さ、強さ、正確さが追求されてきた。これに対し“超分子技術”は文字どおり軟らかいタンパク質からなり、機能的には制御のよくきいた、インテリジェントで融通がきき、高効率なシステムをめざすことになろう。

参考文献

- 1) 大沢文夫編“生命の精密機械”(読売科学選書, 1987)
- 2) G. Wolstenholme & M. O'Connor 編: “Principles of Biomolecular Organization,” Ciba Foundation Symposium, J. & A. Churchill Ltd., (1966)
- 3) 難波啓一: 現代化学, (4) 24 (1987)
- 4) T. Horio, H. Hotani: *Nature*, **321**, 605 (1986)