●特集 21 世紀の膜学を展望する

20 世紀の生体膜研究の到達点と残された課題

大 木 和 夫

東北大学大学院理学研究科物理学専攻 ☎ 980-8578 仙台市青葉区荒巻字青葉

Achievement of Biomembrane Research in the 20th Century and Problems Carried over to the Next Century

Kazuo Ohki

Department of Physics, Graduate School of Science, Tohoku University
Aoba-ku, Sendai 980-857, Japan

Since the discovery of the cell in the 17th century, the life science has been developed by the contributions of many scientists. With the discovery of enzyme at the end of the 19th century, the chemical study of the creature has revealed the metabolic pathways in cells. And the double helix model of DNA proposed by Watson and Crick in the middle of the 20th century which gave a logical answer about the mystery of inheritance at molecular level. It established DNA as the design information of the proteins. On the other hand, it attracted attention to the role of biomembranes at the cell that is the basic unit of the life. I review where the study of biomembranes has reached in the 20th century, and also manifest the problems that have been left until the 21st century.

Key words : biomenbranes

1. はじめに

科学的な生物学の成立を辿るとき、地球生物の基本単位を示した R.Hooke による細胞の発見 (1665 年)、生物に進化の概念を導入した C.R. Darwin による「種の起源」の刊行 (1859 年)、生命が化学反応システムであり、試験管内で再現できることを示した F.K.Büchner による酵素の発見 (1897 年) などに続いて、20 世紀半ばには DNA の二重螺旋構造モデル (1953 年) が、J.D. Watson と F.H.C. Crick によって示された。これにより、遺伝子本体の分子構造が遺伝の論理を内在した蛋

白質の設計情報であると判明し、以後の生命科学の研究には遺伝子の関与を無視できなくなった。一方、生体膜の分野では、S.J. Singer と G.L. Nicolson が提唱した流動モザイク膜モデル (1972 年) により生体膜の構造の基本的な概念が定着した。

20 世紀は 19 世紀までの成果の上に生命科学が一挙に開花した 100 年となった。そこで、この世紀の生体膜研究は何をどこまで明らかにしたかを振り返り、来世紀へはどのような課題が残されたかを考えてみたい。

1.1 流動モザイク生体膜モデルに至る科学技術の発展

Galileo が天に向けた望遠鏡を地上に向け、Hooke は生命の基本単位として細胞を発見した。光学顕微鏡は「百聞は一見にしかず」の「見る技術」として、位相差、微分干涉、蛍光、レーザー走査共焦点などの技術導入とコンピューターによる画像処理技術で現在も進歩し続けている。また、光の波長による解像度の限界は電子顕微鏡(1931年)で克服され、細胞の内部構造の観察は生体膜の役割を注目させた。一方、酵素の発見は生命の実体を化学反応と認識させ、生物研究の主流に「生化学」を登場させた。19世紀末のX線の発見は分子レベルでの構造研究を可能とし、DNAの二重螺旋構造の解明は最大の成果となった。X線回折は蛋白質の立体構造も順次に解明し、ここに「分子生物学」をスタートさせた。

生体膜の研究でもその構造を知ることからスタートし、生体膜のもつ区画性と選択的透過性を説明する最初の膜モデルが提唱された¹⁾。これ以後、生体膜の構造を解明する研究が新技術の導入

で広範囲に進められ (Table1), それらの成果は1972年にSingerとNicolsonの流動モザイク膜モデルに結実し¹⁵⁾, 生体膜の基本構造の概念¹⁶⁾が確立した。細胞の機能における生体膜の役割をその構造の具体的なイメージに結び付けた「流動モザイク膜モデル」は以後の生命科学研究に少なからぬ影響を与えている。

2. 蛋白質と脂質の複合構造体としての生体膜

水環境で脂質分子が自発的に形成した二重層膜¹⁷⁾に遺伝情報の産物である蛋白質が組み込まれたのが生体膜である。細胞は多様であり、それに対応して生体膜も同一ではない。生物が「生きている」とは代謝だけでなく分子の分布や相互作用なども動的な状態にあることで、特定の生体膜上の機能を構成要素の集合構造とともに解明することは極めて難しい。しかし、赤血球は容易に大量の細胞が得られ、形質膜だけを調製できるので、電気泳動法 (SDS-PAGE) により、分子量で分離

Table 1. Papers contributed to the Fluid Mosaic Membrane Model

Year	Author(s)	Contents	Reference.
1935	Danielli & Davson	The first model of lipid bilayer with protein	1)
1957	Skou	Na-K ATPase as a membrane enzyme	2)
1961	Tanford	Theory of hydrophobic interaction	3)
1968	Staehelin	Interpretation of freeze-etched biomembranes	4)
1969	Schairer & Overath.	Effect of unsaturated fatty acids on the temperature characteristic of a cell	5)
1970	Pinto da Silva & Branton	Freeze-etching study of biomembrane	6)
	Melchior et al	Phase transitions of membrane lipids inferred by DSC	7)
	Frye & Edidin	Evidence of intermixing of cell surface antigens	8)
1971	Wilkins et al	Bilayer structure in membranes inferred by X-ray diffraction	9)
	Hubbell & McConnell	Molecular motion of spin-labeled phospholipids in membrane	10)
	Kornberg & McConnell	Inside-outside transitions of phospholipids in vesicles membrane	11)
	Kornberg & McConnell	Lateral diffusion of phospholipids in a vesicle membrane	13)
1972	Singer & Nicolson	The fluid mosaic model of the structure of cell membranes	15)
1976	Nicolson	Biomembrane model with cytoskeletons	16)

して示された¹⁸⁾膜蛋白質について詳細な研究が行われた。グリコフォリンでは、膜貫通領域への疎水性アミノ酸の集中を明らかにし¹⁹⁾、膜蛋白質の親水性アミノ酸と疎水性アミノ酸の役割の解明の端緒となった。バンド3蛋白質(anion exchanger; AE1)は酸素運搬作用での役割が次のように解明されている。活発な代謝を行っている細胞は二酸化炭素を発生させているが、これが赤血球内に入ると重炭酸イオンとなる。バンド3蛋白質により重炭酸イオンは赤血球外に出て、代わりに塩素イオンが入る。強酸の塩酸は赤血球内のpHを低下させボーア効果によりオキシヘモグロビンから酸素が遊離する²⁰⁾。生体膜は細胞骨格系に裏打ちされており、膜蛋白質の骨格系との相互作用は制御された機構である。これは赤血球膜での研究が最も進んでおり、20種近くある主要な蛋白質について縦方向と横方向の相対的な相互作用の関係が明らかにされ²¹⁾、この構造の異常が溶血性貧血の病因となることが指摘されている²²⁾。膜蛋白質の骨格系との相互作用を直接に調べるために、膜蛋白質の抗体を結合させたビーズを膜蛋白質に結合させ、レーザーピンセットにより特定の膜蛋白質を引き動かし、細胞骨格系との相互作用を顕微鏡下に調べる方法が考案された²³⁾。神経細胞では細胞体と軸索の間に膜蛋白質の拡散に対する障壁が存在し、分布に極性があるが²⁴⁾、機能との関連は今後の課題である。膜脂質との相互作用では、貫通型膜蛋白質のシトクローム酸化酵素の周囲を囲む脂質は強い相互作用でその運動が抑制されており、輪状脂質(annular lipids)と名付けられた²⁵⁾。膜蛋白質の活性は脂質要求性であり、活性と脂質の関係が調べられ²⁶⁾、脂質膜の厚さとの相関も示された²⁷⁻²⁹⁾。脂質膜側の測定では、相転移挙動への影響から、膜蛋白質の存在様式を静電的吸着型、係留型、貫通型に分類している³⁰⁾。生体膜のポンプ蛋白質ではH⁺の電気化学ポテンシャルをATPの化学エネルギーに変換するH⁺-ATPaseの構造と機能の研究が進展しており³¹⁾、F₁-ATPaseが回転モーターであり、中央のγサブユニットがそれを囲む円筒サブユニットの中で、ATPのエネルギーにより120度ずつ回転するこ

とが示され³²⁾、H⁺-ATPaseの機能解明の重要な知見となっている。

2.1 膜蛋白質の構造解析

膜蛋白質の1次構造(アミノ酸配列)はDNAの塩基配列が容易に調べられるようになり³³⁾、H⁺-ATPase、アセチルコリン受容体³⁴⁾、Na⁺-チャンネル³⁵⁾と次々に求められた。コドンのアミノ酸に変換して、配列内の各アミノ酸にhydropathy index³⁶⁾を付与し、疎水性膜内領域と親水性膜外領域に分けて、生体膜での存在様式を予測している。しかし、14の疎水性領域のあるバンド3蛋白質で詳細な解析を進めるとその予測は必ずしも正しくないと指摘されている³⁷⁾。膜蛋白質は水溶性蛋白質に比べ結晶化が極めて難しいため、立体構造の解明は遅れている。最初には、生体膜内で自然に結晶構造が得られるバクテリオロドプシンについて、電子線回折で構造が得られた³⁸⁾。光合成系の反応中心複合体はX線構造解析が行われ^{39,40)}、また、シトクロームc酸化酵素は結晶化の成功でX線回折により構造が決定された⁴¹⁾。さらに、酸化型、還元型などについて2.3Åまで分解能を上げることで、構造と機能の関連が解明されつつある⁴²⁾。最近、K⁺-チャンネルの構造も決定されており⁴³⁾、結晶化に成功すれば構造解析は可能な状況にある。

2.2 生体膜の形成と小胞輸送

生体膜の形成は、細胞分裂に必須な過程であり、真核細胞では細胞内小器官が細胞分裂にともなって断片化して娘細胞に分配され、再構築される。生体膜の形成はmembrane trafficと呼ばれる循環経路に組み込まれて動的な状態で行われている。膜蛋白質では信号ペプチド、信号アンカー、膜停止領域などの特徴的なアミノ酸配列が合成され、標的となる膜へ特異的に組み込まれるシグナル仮説が、まず、提唱された⁴⁴⁾。全ゲノムの塩基配列が決定された酵母では分泌関連遺伝子として発見された一連のSec遺伝子が生物種に広く保存されて小胞輸送から膜融合まで生体膜形成の全般に関与すると理解されている⁴⁵⁾。また、粗面小胞

体で合成された蛋白質がゴルジ体から形質膜へと小胞化と膜融合により輸送される機構の研究では細胞内小器官の間で膜蛋白質他の成分が輸送される小胞輸送に制御因子として低分子量G蛋白質の関与が示されている⁴⁶⁾。

2.3 膜融合と細胞機能

膜融合の機構は神経末端でのシナプス小胞と細胞膜の融合で研究されている。膜小胞 (vesicle)

Fig.1 Roles of SNAREs in membrane fusion

In nerve terminals, v-SNAREs are localized in synaptic vesicle, on the other hand, t-SNAREs are localized in presynaptic plasma membrane. These SNAREs form stable 7S ternary complex in each membrane. NSF and α -SNAP play an important role in fusion process. NSF changes its conformation in ATP dependent manner; a cylinder form in the presence of ATP and spray form in the absence of ATP. These conformational changes regulate association of NSF to SNARE complex, and disassemble v-/t-SNARE complexes in individual membranes. Membrane fusion is caused by reassemble of v-/t-SNARE complexes between opposed membranes.

と標的 (target) 膜にそれぞれ特異的な SNARE (Soluble N-ethylmaleimide sensitive factor Attachment protein REceptors) 蛋白質である t-SNARE と v-SNARE が安定な複合体を形成して局在する。これらの複合体は2つの可溶性蛋白質、NSF (N-ethylmaleimide sensitive factor) と SNAP (soluble NSF attachment protein) の作用により解離し、t-SNARE と v-SNARE の間で再結合して標的膜と膜小胞が膜融合する機構が提唱され⁴⁷⁾、SNARE 複合体の 2.4 Å 分解能の X 線構造解析から、膜融合領域の構造のモデルが示されている⁴⁸⁾。酵母の小胞体の融合では関与する成分が少し異なっているとの報告もあり⁴⁹⁾、低分子量蛋白質 Ypt/Rab の関与も示されている⁵⁰⁾。NSF, SNAPs, SNAREs は膜融合の共通の機構として保存されているが、本来、NSF と SNAPs はゴルジ体間の vesicle 輸送に必須の蛋白質であり、種々の膜輸送に関与しており、酵母の類似蛋白質はその分泌経路に必須な Sec18p と Sec17p (それぞれ yast NSF と α -SNAP) が対応している。NSF は ATPase の 1 種でその加水分解活性は SNAREs, とくに、t-SNARE, syntaxin の構造変化により 7S 複合体の解離へと誘導し、これが異なる膜間で再結合することで膜融合が生じる。この機構は quick-freeze/deep-etch 電子顕微鏡観察で解明した⁵¹⁾ (Fig.1)。膜融合は生体膜の形成、小胞輸送、膜動輸送、細胞分裂など膜の区画性が変化するときの基本機構であり、真核細胞で広く保存された機能として研究が進んでいる。

2.4 生体膜の構造・物性と機能の相関

脂質膜の構造と物性は膜蛋白質の活性に影響を及ぼし、結果的に機能を制御している。生体膜機能の微妙な変化では、相転移⁵²⁾、相分離^{53,54)}、流動性⁵⁵⁾、側方拡散、回転拡散、flip-flop⁵⁶⁾、非二重層構造⁵⁷⁾、膜透過性⁵⁸⁾などのバイオダイナミクスを理解する必要がある⁵⁹⁾。生体膜の脂質成分は多種多様であり、不均一な領域 (domain) が形成されるかの解明が課題となっている。基盤上に配向させた鎖長の異なるホスファチジルコリン 2 成分系の脂質二重層膜では、ゲル相で 10 nm 程度のド

メインが形成されることが、中性子線回折と原子間力顕微鏡で確認された⁶⁰⁾。アドレナリンが細胞内の cAMP 濃度を上昇させる現象で、形質膜上の β -アドレナリン受容体とこれが活性化するアデニル酸シクラーゼの両膜蛋白質は独立な存在であり⁶¹⁾、シクラーゼ活性では両者の衝突が膜の粘度に依存したことから、両者の衝突が必須となる拡散制御過程と結論された⁶²⁾。

2.5 細胞の温度適応と生体膜の脂質修飾

すべての物質の物性は温度依存性であり、生体膜もゲル相と流動相の間の相転移を示す。環境の直接の影響下にある単細胞生物はその膜脂質の脂肪酸に二重結合を導入して、流動性と相転移温度を変えて温度適応をしている^{63~65)}。これは多細胞生物の株化した培養細胞でも示され、地球生物が進化の過程で獲得した能力と考えられる⁶⁶⁾。テトラヒメナ細胞を用いた研究では低温ストレスが増大させる不飽和化酵素活性はシクロヘキシミドで抑制され⁶⁷⁾、さらに、不飽和化酵素の mRNA が高いレベルに維持されることも示された⁶⁸⁾。シアノバクテリアで不飽和化酵素の遺伝子をノックアウトすると相転移温度が適応変化しない⁶⁹⁾ ことから、低温適応への不飽和化酵素遺伝子の直接の関与が示され、細胞の温度適応が stress-induced gene expression であることが示された。細胞が環境に依存した応答をする能力は、脳の記憶精神作用が発育時の刺激で神経細胞の回路網を形成することに共通する細胞の基本的な能力で広義の情報伝達機構と理解できる。

3. 細胞の情報伝達と生体膜の受容体

細胞は生命の基本単位であり、単細胞の原核生物から真核生物、さらに、多細胞生物への進化の過程で常に細胞外からの刺激に応答して細胞機能を制御してきた。これが細胞の情報伝達機構である⁷⁰⁾。

3.1 受容体蛋白質

形質膜が細胞の内外を区画しているので、形質

Fig. 2 G protein-coupled-receptor and signaling Binding of an agonist to its specific G-protein-coupled-receptor activates G_α subunit and $G_{\beta\gamma}$ subunit by dissociating them. These activated subunits activate the subunit-mediated effector. Hydrolysis of GTP returns them to inactive form.

Fig. 3 Metabolic pathways of lipids relating to the signal transduction in cells

Membrane phospholipids are substrates for a phospholipase that is activated by the specific signal transduction pathway. The product converted by the phospholipase acts as a regulating factor in the following cascade of signal transduction in the cell.

膜上に刺激の受容、変換、伝達などの機能をもつ蛋白質が存在することになる。アドレナリンの受容体への結合がG蛋白質を介して、アデニル酸シクラーゼを活性化し、ATPを変換したcAMPがAキナーゼを活性化して、各種の蛋白質の機能を制御する機構が最初に示された。生命の維持にエネルギーは必須であり、情報の伝達と制御でも随所で利用されている。受容体にリガンドが結合したとき伝達系のスイッチをオン・オフするG蛋白質にはGTPのエネルギーが利用され(Fig. 2)、既に100種類以上の共役する受容体がG蛋白質の

活性化で分類された⁷¹⁾。この活性化機構での信号伝達は cross-talk と名付けられる複雑な経路でその活性化が微調整されている⁷²⁾。細胞の情報伝達機構では膜脂質が重要な役割を果たすことが示され、ホスファチジルイノシトール・サイクル、スフィンゴミエリン・サイクルのように、その代謝産物が伝達物質として作用したり、ホスファチジルセリンのように情報伝達機構で中心的な役割を担っているプロテイン・キナーゼ C (PKC) の活性化に要求される⁷³⁾など、機能性脂質の概念も生まれている⁷⁴⁾。リン脂質は分子量 1,000 未満の生体膜の必須成分であり、1 段階の反応で変換された分子が構造と物性を大きく変化させて作用し、代謝のネットワークを容易に形成できる点に特徴がある (Fig.3)。細胞の情報変換に関わる脂質とそこに関与する酵素については、総説集の特集がある⁷⁵⁾。PKC の一次構造は解明されており⁷⁶⁾、分子レベルでの活性化機構に次の仮説がある。PKC はアミノ末端側の 19 番目から 36 番目に基質となる蛋白質のリン酸化される部位と類似の配列をもち、通常はこの領域が触媒部位に結合して活性が抑制されている。この領域は塩基性アミノ酸 7 残基を含み酸性アミノ酸は存在しないの

で、膜の酸性リン脂質と静電的に結合し、触媒部位が開くことで活性化される⁷⁷⁾。PKC の活性化は膜への結合がともなっており⁷⁸⁾、ジアシルグリセロール・キナーゼも同様に膜への結合で活性化さ

Fig.4 Two major biopolymers in a cell DNA is specific for individual species and includes complete information to create the body of species. Therefore, it is helpful to know genetic information of a biological object in any study of life science including biomembranes. In other word, the origin of any biological function that is manifested on a protein could be attributed to its gene on DNA.

Fig.5 Biological System and Ecological System

Living state is considered as a thermodynamic stationary state. Stationary state is a special state of non-equilibrium state. In order to maintain these states, energy is supplied continuously to the system. The final source of energy of living organisms on the earth is a solar energy. And the earth itself is also considered as a living body.

れる⁷⁹⁾。細胞内での膜への結合による活性化を調べるため、PKC に Green Fluorescence Protein 遺伝子を導入して、その膜への結合を顕微鏡下に視覚化する研究が行われている^{80,81)}。一方、ホスファチジルイノシトール・サイクルで生成するイノシトール 3 リン酸 (IP3) の受容体は Ca^{2+} -チャンネルであり、胚発生での関与の研究から器官、形態の配置における役割が注目されている⁸²⁾。ノックアウトマウスの研究からもその重要性が明らかにされている。

4. 生体膜研究の方向と 21 世紀に残された課題

20 世紀の生物科学は遺伝子の本体 (DNA) と蛋白質の関係を解明し、地球生物の根源的な理解への道を開き、地球生物とは何かを示してくれた。DNA (核酸) と蛋白質は生物の二大基本分子であり、生命の誕生から進化の過程で、遺伝情報とそれが発現した生物機能として相互に強い関連をもって地球の歴史とともに歩んできた。今後は生体膜の研究でも遺伝情報の知識が研究方法と結果の考察でその重要性を増すものと考えられる (Fig. 4)。ところで、地球環境と生態系の問題が緊急の課題となった現在、地球自身を 1 つの生命体とする考え方⁸³⁾が必要とされている (Fig. 5)。生態系では生物の多様性がシステムとしての生態系に必須なものと認識されるようになったが、個体レベルでも細胞では代謝系、細胞内情報伝達系、多細胞生物ではさらに、神経系、免疫系など、システムが存在して作用している。人間を特徴付ける脳の記憶・精神作用も発育にもなって形成されたシステムであり、21 世紀の最重点課題に位置付けられているが、ここでは神経細胞で生体膜の役割を解明する必要がある。生体膜の研究は細胞の構築体の機能の解明として進展したが、膜蛋白質の構造の解明が遅れている現状がそのまま反映している。21 世紀にはシステムとして生物を理解する研究が必須となる。既に、代謝系、免疫系、情報伝達系、神経系などの中に生体膜を位置付けて行う研究の萌芽はあり、この方向に生体膜研究

Fig. 6 Stationary state of life and Futile cycle
At a resting state, Ca^{2+} concentration in the cell is maintained at a low level by operating pumps that need energy (ATP). Excess diacylglycerol (DG) is removed from the signaling system by phosphorylating it by DG kinase that needs energy (ATP). In order to maintaining resting state, many cycles that need energy are operating. They are called 'futile cycle'.

も進むものと予想される。システムとしての生体膜は細胞が“生きている状態”と深く関わっている。“生きている状態”は熱力学的には定常状態を維持することであり、そのためには常にエネルギーを消費している。これは、細胞機能においては、ある機構は不活性状態でも正の作用と負の作用が同時に行われていてエネルギーは消費され、見かけ上活性が現れていない。このような系は徒労サイクル (futile cycle) と呼ばれ生物では一般的である⁸⁴⁾ (Fig. 6)。徒労サイクルが生物の外部ストレスに対する迅速な応答と適応性を保証していると考えられる。

5. おわりに

著者が関係する研究分野以外では理解が十分でない点があるものと思います。出来るだけ多くの参考文献を挙げてありますので、詳細を参照して頂ければ幸いです。

文 献

- 1) Danielli J F, Davson H J: *Cell. Comp. Physiol.* **5**, 495-507 (1935)
- 2) Skou, J C.: *Biochim. Biophys. Acta* **23**, 394-401 (1957)
- 3) Tanford C: *J. Amer.Chem. Soc.* **84**, 4240 (1962)
- 4) Staehelin L A: *J. Ultrastructure Res.* **22**, 326-347 (1968)
- 5) Schairer H U, Overath P: *J. Mol. Biol.* **44**, 209-214 (1969)
- 6) Pinto da Silva and D. Branton, B. *J. Cell Biol.* **45** 598-605, (1970)
- 7) Melchior D L, Morowitz H J, Sturtevant J M, Tsong T Y: *Biochim. Biophys. Acta* **219**, 114-122 (1970)
- 8) Frye L D, Edidin M: *J. Cell Sci.* **7**, 319-335 (1970)
- 9) Wilkins M H F, Blaurock A E, Engelman D M: *Nature New Biol.* **230**, 72-76 (1971)
- 10) Hubbell W L, McConnell H M: *J. Am. Chem. Soc.* **93**, 314-326 (1971)
- 11) Kornberg R D, McConnell H M: *Biochemistry* **10**, 1111-1120 (1971)
- 12) Kornberg R D, McConnell H M: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **68**, 2564-2568 (1971)
- 13) Sackmann E, Trauble H: *J. Amer. Chem. Soc.* **94**, 4482-4491 (1972)
- 14) Devaux, R, McConnell H M: *J. Am. Chem. Soc.* **94**, 4475-4481 (1972)
- 15) Singer S J, Nicolson G L: *Science* **175**, 720-731 (1972)
- 16) Nicolson G.L: *Biochim. Biophys. Acta* **457** 57-108 (1976)
- 17) Israelachvili J, Mitchell J, Ninham B W: *Biochim. Biophys. Acta* **470**, 185-201 (1977)
- 18) Fairbanks G, Seck, T L, Wallach D F: *Biochemistry* **10**, 2606-2617 (1971)
- 19) Tomita M, Marchesi V T: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **72**, 2964-2968 (1975)
- 20) 濱崎直孝, 大久保研之: 「赤血球」藤井寿一, 高桑雄一編集, p93-113, 医学書院 (1998)
- 21) 高桑雄一, 稲葉 睦: 「赤血球」藤井寿一, 高桑雄一編集, p81-92, 医学書院 (1998)
- 22) 高桑雄一: 日本臨牀 **54** (1996), 2300-2303
- 23) Kusumi A, Sako Y, Fujiwara T, Tomishige M: *Methods Cell Biol.* **55**, 173-194 (1998)
- 24) Winckler B, Forscher P, Mellman I: *Nature* **397**, 698-701 (1999)
- 25) Jost, P.C, Griffith O.H, Capaldi R.A. and Vanderkooi, G, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **70** 480-484, (1973)
- 26) Sandermann H Jr: *Biochim. Biophys. Acta* **515**, 209-237 (1978)
- 27) Caffrey M, Feigenson G W: *Biochemistry* **20**, 1949-1961 (1981)
- 28) Cornell R B: *Biochemistry* **30**, 5881-5888 (1991)
- 29) In't Veld G, Driessen A J M, Op den Kamp J A F: *Biochim. Biophys. Acta* **1065**, 203- 212 (1991)
- 30) McElhaney R N: *Biochim. Biophys. Acta* **864**, 361-421 (1986)
- 31) 香川靖雄: 膜 **34**, 194-199 (1999)
- 32) Yasuda R, Noji H, Kinosita K Jr, Yoshida M: *Cell* **93**, 1117-1124 (1998)
- 33) Maxam A M, Gilbert W: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **74**, 560-564 (1977)
- 34) Noda M, Takahashi H, Tanabe T, Toyosato M, Furutani Y, Hirose, T, Asai M, Inayama S, Miyata T, Numa, S: *Nature* **312**, 121-127 (1984)
- 35) Noda, M, Shimizu S, Tanabe, T, Takai T, Kayano T, Ikeda T, Takahashi H, Nakayama H, Kanaoka Y, Minamino N, Kangawa K, Matsuo H, Raftery M A, Hirose T, Inayama S, Hayashida H, Miyata T, Numa S: *Nature* **312**, 121-127 (1984)
- 36) Kyte J, Doolittle R F: *J. Mol. Biol.* **157**, 105-132 (1982)
- 37) 濱崎直孝: 生物物理 **39**, 240-245 (1999)
- 38) Henderson R, Unwin, P N T: *Nature* **257**, 28-33 (1975)
- 39) Deisenhofer J, Epp O, Miki K, Hubber R, Michel H J: *Mol. Biol.* **180**, 385-398 (1984)
- 40) Deisenhofer J, Epp O, Miki K, Hubber R, Michel H: *Nature* **318**, 618-624 (1985)
- 41) Tsukihara T, Aoyama H, Yamashita E, Tomizaki T, Yamaguchi H, Shinzawa-Itoh K, Nakashima R, Yaono R, Yoshikawa S: *Science* **269**, 1069-1074 (1995)
- 42) Yoshikawa S, Shinzawa-Ittoh K, Nakashima R, Yaono R, Yamashita I, Inoue N, Yao M, Fei J J, Libeu C P, Mizushima T, Tsukihara T: *Science* **280**, 1723-1729 (1998)
- 43) Doyle D A, Cabral J M, Pfuetzner R A, Kuo A,

- Gulbis J M, Cohen S L, Chait B T, MacKinnon R: *Science* **280**, 69-77 (1998)
- 44) Walter P, Gilmore R, Blobell, G: *Cell* **38**, 5-8 (1984)
- 45) 中野明彦：現代化学増刊 **34**, 185-201 (1997)
- 46) Fang M, Rivas M P, Bankaitis V A.: *Biochim. Biophys. Acta* **1404**, 85-100 (1998)
- 47) Rothman J E: *Nature* **372**, 55-63 (1994)
- 48) Sutton R B, Fasshause D, Jahn R, Brunger A T: *Nature* **395**, 347-353 (1998)
- 49) Patel S K, Indig F E, Olivieri N, Levine N D, Latterich M: *Cell* **92**, 611-620 (1998)
- 50) 佐藤 健：生物物理 **39**, 250-253 (1999)
- 51) Hansonk P I, Roth R, Morisaki H, Jahn R, Hauser, J E: *Cell* **90**, 523-535 (1997)
- 52) Nakayama H, Ohki K, Mitsui T, Nozawa, Y: *Biochim. Biophys. Acta* **769**, 311-316 (1984)
- 53) Ohki K, Sekiya T, Yamauchi T, Nozawa, Y: *Biochim. Biophys. Acta* **693**, 341-350 (1982)
- 54) Ohki K, Takahashi K, Kato S, Maesono, A: *Chem. Phys. Lipids* **50**, 109-117 (1989)
- 55) Goto M, Ohki K, Nozawa, Y: *Biochim. Biophys. Acta* **693**, 335-340 (1982)
- 56) Endo T A, T. Kobayashi T, Ohki K: *Exp. Cell Res.* **228**, 341-346 (1996)
- 57) Ohki K, Tamura K, Hatta, I: *Biochim. Biophys. Acta* **1028**, 215-222 (1990)
- 58) Ohki K, Nagaoka S, Sogami M, Nozawa Y: *Chem. Phys. Lipids* **39**, 237-249 (1986)
- 59) 野澤義則, 大木和夫：生体膜のバイオダイナミクス, 羊土社, 東京, (1993)
- 60) Gliss C, Clausen-schaumann H, Gunther R, Odenbach S, Rand O, Bayer T M: *Biophys. J.* **74**, 2443-2450 (1998)
- 61) Oely J, Schramm M: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **73**, 4410-4414 (1976)
- 62) Hanski E, Rimon G, Levitzki A: *Biochemistry* **18**, 847-853 (1979)
- 63) Sinensky M: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **71**, 522-525 (1974)
- 64) Nozawa Y, Iida H, Fukushima H, Ohki K, Ohnishi, S: *Biochim. Biophys. Acta* **367**, 134-147 (1974)
- 65) McElhaney R N, Souza K A: *Biochim. Biophys. Acta* **443**, 348-359 (1976)
- 66) 大木和夫, 野沢義則：油化学 **30**, 636-642 (1981)
- 67) Nozawa Y, Kasai R: *Biochim. Biophys. Acta* **529**, 54-66 (1978)
- 68) Nakashima S, Zhao Y, Nozawa Y: *Biochem. J.* **317**, 29-34 (1996)
- 69) Tasaka Y, Gombos Z, Nishiyama Y, Ohba T, Ohki K, Murata N: *EMBO J.* **15**, 6416-6425 (1996)
- 70) 宇井理生編：現代化学増刊 **34**「細胞内シグナル伝達」東京化学同人 (1997)
- 71) 芳賀達也：現代化学増刊 **34**, 29-39 (1997)
- 72) Selbie L H and Hill J H: *Trends Pharmacol. Sci.* **19** 87-93 (1998)
- 73) Kishimoto A, Takai Y, Mori T, Kikkawa U, Nishizuka Y: *J. Biol. Chem.* **255**, 2273-2276 (1980)
- 74) 野澤義則：実験医学増刊, **14**, 18-22 (1996)
- 75) *Biochim. Biophys. Acta* 1436 (1 & 2) (1989)
- 76) Parker P J, Coussens L, Totty N, Rhee L, Young S, Chen E, Stabel S, Waterfield M D, Ullrich A: *Science* **233**, 853-859 (1986)
- 77) Mosior M, McLaughlin S: *Biophys. J.* **60**, 149-159 (1991)
- 78) Melloni E, Pontremoli S, Michetti M, Sacco O, Sparatore B, Salamino F, Horecker B L: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **82**, 6435-6439 (1985)
- 79) Sakane F, Yamada K, Imai S, Kanoh H: *J. Biol. Chem.* **266**, 7096-7100 (1991)
- 80) Sakai N, Sasaki K, Ikegaki N, Shirai Y, Ono Y, Saito N: *J. Cell Biol.* **139**, 1465-1476 (1997)
- 81) Ohmori S, Shirai Y, Sakai N, Fujii M, Konishi H, Kikkwa U, Saito N: *Mol. Cell. Biol.* **18**, 5263-5271 (1998)
- 82) Kume S, Muto A, Inoue T, Suga K, Okano H, Mikoshiba, K: *Science*. **278**, 1940-1943 (1997)
- 83) J. E. ラヴロック：ガイアの科学 地球生命圏, 工務舎, 東京 (1984)
- 84) Huang M-T, Lardy H A: *Arch. Biochem. Biophys.* **209**, 41-51 (1981)

(受付 1999年8月6日 掲載決定 8月11日)