

生物物理：運動の分子機械

大沢文夫（愛知工業大学）

まえがき

参考文献として著者が雑誌“パリティ”（丸善）に昨年4月から本年3月まで連載した講座“生物物理”がある。生物物理はでき上がった学問ではなく、基礎と応用に分けられる学問でもない。「教科書」はない。ただ、研究者それぞれが自分の“生物物理”のイメージをもっている。上の講座はその一つである。以下はその線に沿っての今回の講義の概略である。

§ 1. 序

ワトソン・クリックの遺伝子DNAの2重らせん構造の発見は生命と分子との直結を主張する分子生物学の始まりであった。原子の豆細工でDNAのモデルを組み立てると、遺伝情報の内容、その複製過程が誰にでもわかってしまう。遺伝というもっとも生きものらしい現象が分子の働きに帰着されてしまった。生物の働きを分析していくと、ひとつひとつの働きに対応してそれを担う特定の分子が存在する。それらの分子の働きを合わせると1つの生物ができ上がる。分子生物学は部品主義である。それが生物の現実であるという。

生命現象といえども生物を構成する原子、分子の物理、化学の法則に従うふるまいとして理解できるはずである。分子をつかまえ、分子の構造、運動、変化をしらべよ、というのはまさに物理的考え方である。ただその結果わかってきた事実はいかにも機械的であり、化学的であった。「生物は積木細工ですね。」というのは湯川秀樹のことばである。

生物物理分野の研究の目標は物理学としておもしろく、かつ生物学としておもしろいことを見つけることである。これはかなり高い望みで容易には達成できない。われわれの直感する生きものらしさにはいろいろある。生きものらしさのもとを追求していくと、どこかで積木細工をこえる何かにつき当たるのではないか。それは何であって、構造のどの階層でどういう形で現われるか。こういう問いかけから、物理学としても生物学としてもおもしろい研究が生まれるのではないか。

§ 2. 生物を物理に

生物の分子論が本格的な物理になったのは1950年代、タンパク質の変性が可逆であることが証明されてからである。生きている細胞から抽出精製された酵素タンパク質は熱したり酸やアルカリを加えると酵素作用を失う。これを変性という。変性した酵素タンパク質はどうやっても酵素作用を回復しない。酵素に限らず、卵の白身に代表される

ようにタンパク質はいったん変性すると元の状態に戻せない。これが長い間の常識であった。ところが変性させた後常温中性におくと自然に酵素作用を回復する場合が見つかった。

タンパク質分子は数百ヶのアミノ酸のつながった鎖である。この鎖が適当に折れ曲がってまとまった立体構造を作る。酵素タンパク質であれば、その分子固有の立体構造を作ってはじめて酵素作用を発揮する。熱や酸、アルカリで立体構造がほどけて一本の鎖となると酵素作用がなくなる。ほどけた鎖と特定の立体構造との間の変化が環境に応じて可逆的に起こることがわかった。どの環境でどの構造をとるかが熱力学、統計力学で取扱える問題となった。各構造のエネルギー、エントロピー、自由エネルギーが測れるようになった。

タンパク質分子が集まってフィラメント状構造などの集合体を作る過程も可逆であることがわかった。典型的な例はタバコモザイクウイルスの場合である。これは多数のタンパク質分子が一本の RNA 分子をとりまいて円筒状構造を作っている。それをばらばらの分子へこわしても再び常温中性におくと元のウイルスの構造を作る。

生きている細胞の中でタンパク質分子は一本のアミノ酸の鎖として合成されてから、それぞれの立体構造を作る。故に上の話は細胞の中での過程を試験管の中で行わせることができることを意味する。タンパク質分子の集合体形成についても同様である。細胞の中の現象は複雑であるが、その一部分を切りとって物理現象として研究できるようになった。

§ 3. 運動の分子機械

酵素の場合は細胞から酵素タンパク質分子を抽出精製し、試験管の中で酵素作用を発揮させることができる。同様に、筋肉からタンパク質分子を取り出して試験管の中で収縮を再現することができるか。50 年前、1940 年代、セントジョージはそれに成功した。ただしとり出したタンパク質分子 1 ヲが収縮したわけではない。筋肉細胞から抽出精製されたタンパク質ミオシンの分子とアクチンの分子それぞれが集合してフィラメント構造を作ったとき、それらを混合して筋肉収縮のエネルギー源 ATP を加えると試験管内で“収縮”がおこった。これらのタンパク質の溶液全体が一様に濁っていたのが、ATP を加えた後固く小さい沈澱を作った。

この実験は筋肉収縮に 2 種類のタンパク質ミオシンとアクチンの分子が必要であり、それらの集合の集合という段階で収縮機能が現れることを明らかにした。

一方 1954 年筋肉細胞の電子顕微鏡観察にもとづいて H.ハックスレイとハンソンが、光学顕微鏡観察にもとづいて A.ハックスレイが、収縮は細胞内に平行に並んだ太いフィラメントの間に細いフィラメントがすべりこむことによるという説を提出した。前者はミオシン分子を、後者はアクチン分子を主成分とするフィラメントであった。

その後、抽出精製したミオシン、アクチン両分子から試験管の中で、あるいは顕微鏡の下で“すべり運動”する系を再構成する努力が積み重ねられた。

アクチンフィラメントとミオシンフィラメントとを平行に並べて ATP を加えるとすべり運動がおこる。セントジョージの実験が示唆していたことであるが、一本のアクチンフィラメントにばらばらのミオシン分子と ATP を加えたのではアクチンフィラメントのすべりはおこらない。一本のミオシンフィラメントにばらばらのアクチン分子と ATP とでもだめである。すべりのおこるぎりぎりの組合せは一本のアクチンフィラメントとガラス板に一端を固定したミオシン分子とであった。アクチンフィラメントはミオシン分子の上をすべる。収縮機能はすべり運動機能であるが、それをもつのに必要かつ十分な最小の分子集合体—分子機械—がつかまった。それは ATP の加水分解の化学的自由エネルギーを運動のエネルギーへ変換する。この変換のメカニズムはまさに物理の問題である。まずこの分子機械の機能をはっきり定義することからはじめなければならない。

§ 4. 分子機械の入出力

筋肉細胞中でミオシンフィラメントとアクチンフィラメントの間のすべりはどのようにしておこるか。いくつかのわかりやすいモデルが提出された。ミオシンフィラメントをボートに見立てて、それに漕ぎ手がのっていてオールでアクチンフィラメントをひっかけて漕ぐ、もちろん漕ぎ手もオールもミオシン分子の一部である。あるいはミオシンフィラメントからミオシン分子の脚が出ていて、アクチンフィラメント上を歩くとか、ミオシン分子の頭が突き出てアクチンフィラメントにくっついたところで首を振るとかである。漕ぐ、歩く、首を振るなどが ATP の加水分解反応とカップルしていると考ええる。ミオシンは ATP の加水分解反応を触媒する酵素であり、その酵素作用がアクチンフィラメントとの相互作用によって活性化されることがわかっていた。ATP 1 分子の分解に伴ってひと漕ぎ、1 歩、ひと振りがおこると想定するのである。いかにも機械的発想である。しかしその実験的証拠はなかった。

すべり運動の分子機械のインプットは ATP 分子の加水分解の自由エネルギー $\Delta \mu_{\text{ATP}}$ 、加水分解される ATP 分子の数 n_{ATP} であり、アウトプットはフィラメントのすべりの力 K 、すべりの距離 Δl である。ATP 分子 1 々の分解によってフィラメントはどれだけの距離すべるか、この関係が柳田敏雄らによってきちんとしらべられたのはすべり説提唱後 30 年をへてからであった。

筋肉細胞からとり出したミオシンフィラメントとアクチンフィラメントの交互に平行に並んだ系を用いて、ATP を加えた後、アクチンフィラメントのすべりの速さとそのときの ATP の分解の速さとが測定された。ミオシン分子 1 々当たり、ATP 分子 1 々の分解によるアクチンフィラメントのすべりの距離は約 60 nm となった。

ミオシン分子の脚あるいは首の長さから考えて、前述の 1 歩やひと振りがあるとして、その大きさは 10 nm 程度のはずである。ひと振りとは ATP 分子 1 々の分解とがたかたかみ合っているのではなさそうである。

ガラス板上に固定されたミオシン分子の上をアクチンフィラメントにすべらせた

きにも ATP 分子 1 ヶの分解で長い距離すべるという結果がえられた。ATP 分解とすべりとはルースカップリングである。ATP 分子 1 ヶの分解に伴ってアクチンフィラメントのすべる距離は荷重に依存して 0 nm から 60 nm まで広く可変である。

§ 5. べん毛モーターの場合

大腸菌などのバクテリアは細胞表面に生やした長いらせん型のべん毛をねもとのモーターによって回転させて水の中を泳ぐ。回転とともにらせんの波型がべん毛の先端へ向かって走り、水をおす。モーターは数種類のタンパク質分子合計百ヶ程度からできている。べん毛のねもとに直結した内筒とそれを囲み細胞膜に固定された外筒状構造をもつ。

モーター回転の動力源は細胞外から内への水素イオン(プロトン)の流れである。(バクテリアによっては水素イオンではなくナトリウムイオンの流れによって回転するモーターをもつ。)バクテリアは細胞内外に内がマイナスの電位差(通常 0.2 V 程度)を作っており、それによってプロトンを流す。

飢餓状態において自力で泳げなくなったバクテリアのモーターを半人工的に回転させることができる。プロトンを細胞内外の電位差で流しても、濃度差すなわち pH 差で流してもモーターはまわる。プロトンの電気的エネルギーと pH 差による[負のエントロピー] $\times T$ とは自由エネルギーとして同等にモーター回転の仕事へ変換される。(電位差が 60 mV のときと pH 差が 1 のときとモーターの回転速度はほぼ同じである。)

電位差または pH 差を小さくしていくとモーターの回転速度は小さくなる。電位差が約 25 mV または pH 差が約 0.5 でプロトンの自由エネルギーは $1kT$ すなわち熱ゆらぎのエネルギー程度であるが、ある種のバクテリアではこの条件のときモーターがおそいながらもスムーズにまわった。

べん毛モーターはまさに統計力学的機械である。モーター回転のメカニズムとしてさまざまなモデルが提出された。それらではプロトンの流れとモーターの回転とが歯車のようにかたかくみ合っていると想定された。モーターのインフラックスとエフラックスはタイトカップリングとされた。しかし、上にのべたモーターの特性はルースカップリングを示唆するのではないか。

今のところ、カップリングがタイトかルースかはわかっていない。モーターの回転速度を刻々正確に測定できる方法は発明されたが、モーターを流れるプロトン電流は測定できていない。バクテリア細胞をそのまま使うとモーター以外に細胞膜のあちこちでプロトンが出入りしている。膜にうめこまれたモーターだけを分離して電流を測ればよい。モーターをタンパク質分子から人工的に再構成し、膜にうめこめればもっといい。それには遺伝子工学の方法が有力である。

§ 6. 分子機械の直接観察

分子機械の機能をはっきりさせるのにインフラックスとエフラックスとのカップリングがタイトかルースかと問いかけることが有効である。できれば分子機械の1回の動作（そういうものがあるとして）を直接観察してカップリングの仕方を明らかにしたい。それには新しい実験方法の開発が不可欠である。

アクチンフィラメントは径5 nmの粒状のアクチン分子の2重らせん状重合体で太さは約8 nmである。約20年前一本のアクチンフィラメントを暗視野光学顕微鏡でみることができた。ただしこのときはミオシン分子の断片をアクチンフィラメントにくっつけて太くしてであった。その後蛍光を発する低分子をアクチンフィラメントにつけ蛍光顕微鏡でみる方法が発明され、一本のフィラメントが期待された通りの曲がりの熱運動をするのが観察できた。

さらに極めて細いガラスフィラメントの先にアクチンフィラメントの一端をくっつけ、アクチンフィラメントをひっぱって切り、切れるときの力を測定する実験が行われた。柳田らのこの実験は分子レベルの顕微操作の始まりであった。また球状ビーズにアクチンフィラメントあるいはミオシン分子をつけることができ、ビーズをレーザー光によってトラップし、ビーズの位置、それに働く力をそれぞれ nm、pN の大きさに測定する方法が開発された。これらの方法は主として柳田グループによって単一分子の計測へと進められた。

現在、水の中のミオシン分子やアクチン分子1ヶが蛍光分子と結合させることによって（それがあまりはげしく動かなければ）蛍光顕微鏡でみえるようになった。ATP 1分子もそれに蛍光を発する原子団を化学結合でくっつけて、蛍光顕微鏡で見ることができる。ガラス板に固定されたミオシン分子に ATP 分子が結合し、それが加水分解されて ADP と無機リン酸となり、ミオシン分子から離れる。水中の自由な ATP や ADP は熱運動で見えないので ATP あるいは ADP はミオシン分子に結合している間だけ見える。ATP の加水分解の1反応が見えることになる。

ミオシン分子1ヶとアクチンフィラメント1本の組合せで ATP 分子の加水分解にカップルしてのひとすべりの力と距離の測定も行われている。まもなくすべり運動の分子機械のインフラックス・エフラックスカップリングの実態が明らかになるであろう。

§ 7. 分子機械のメカニズム

すべり運動、回転運動の分子機械は熱ゆらぎの中で熱ゆらぎと大差のない大きさの入力の自由エネルギーを有効に運動のエネルギーへ変換する。べん毛モーターはプロトンの電気化学自由エネルギー 1 kT でまわる。ATP 1分子の加水分解の自由エネルギーは約 20 kT であるが、ミオシン分子上のアクチンフィラメントのひとすべりを 60 nm とするとアクチン分子1ヶの距離 5 nm すべるのに使う自由エネルギーは 1 kT 程度となる。

ここで注が必要である。これらの分子機械は極めて小さいので動くときの慣性は水の粘性抵抗に比べて無視できる。すなわちアクティブに力を出さないと瞬間的に止まる。アクチンフィラメントがすべるのに ATP 分解によってはじめに大きな力を出してあとはその勢いですべるといふわけにいかない。すべっている間すべり力を出しつづけていないといけない。

このような kT -マシンの自由エネルギー変換のメカニズムは？この問題は最近物理研究者の興味をひいているようである。

約 10 年前ファインマンの爪車（ラチェット）がもち出された。ファインマンの教科書にミクロな爪車がいかにして一方むきに回転するかについてのエレガントな解説がある。爪車の回転の自由度と止め金の出入の自由度との間に温度差があるのが基本である。彼の爪車ではエネルギーの流れ、温度差と熱と仕事の関係がきっちり表現される。

これをすべり運動の分子機械に適用して、爪車にアクチンフィラメントを止め金にミオシン分子を（あるいは逆の）対応させようというのである。爪車の歯の高さを可変にして回転のはやいときに歯が低いとすると回転 1 コマ当たりのエネルギー消費量がへり、ルースカップリング型になる。

この爪車型メカニズムが現実には働くためにはすべり運動中のミオシン分子、アクチンフィラメントの構造のどこかに”高温状態”が作られなければならない。ATP の加水分解の自由エネルギーによってである。そんなことは不可能であるというのが大方の意見であった。最近はそうでもない。タンパク質分子に多重状態があるらしいことがわかってきたからである。

他にもいろいろの爪車型メカニズムが提唱されている。それらにもとづいて人工的モデルも作られた。実験は単一分子機械の単一イベントにおける自由エネルギー変換へと問題を煮つめてきた。理論は難問に直面している。難しさの一つは変換されるのがエネルギーではなく自由エネルギーであるということにある。

§ 8. 運動の制御

筋肉は神経から信号がきたときにだけ収縮する。ミオシン、アクチンフィラメント間のすべりのオンオフのメカニズムが江橋節郎によって明らかにされた。アクチンフィラメントに第 3 のタンパク質分子トロポニンとトロポミオシンが結合している。それらがすべりがおこるのを抑制する。神経からの信号が筋肉細胞に伝わると、細胞の中の小胞に貯えられたカルシウムイオンが放出され、アクチンフィラメント上のトロポニンに結合する。上の抑制がとれてアクチンフィラメントはミオシンフィラメントと相互作用し ATP を分解しつつすべりをおこす。神経からの信号がとだえるとカルシウムイオンは小胞内に吸収され、再び抑制がかかる。エネルギー源 ATP を出し入れすることによってオンオフするのではない。

ミオシンとアクチンからなる分子機械に十分にすべり運動の機能をもたせ、それに抑制機構をつけ加え、抑制を外すことでスイッチオンとする。これは生物がしばしば用い

る制御の方式である。

筋肉細胞で収縮がオンになったときおもりを変えて収縮を測ると、収縮高はおもりによらずほぼ一定であるが、収縮の速さはおもりが大きくなるほどおそくなり、ある限度のおもりでゼロになる。筋肉の出す力とおもりとがバランスしている。この状態で仕事はしていないが ATP を消費している。そこでおもりを少し小さくすると収縮しておもりをもち上げ仕事をする。ATP の消費がふえる。さらにおもりを小さくすると収縮の速さは増すが、単位時間当たり仕事量はへり、それとともに ATP の消費量もへる。必要な仕事量によって ATP の消費を調節する。

以上の細胞でみられるおもりの重さと収縮の速さとの関係及び収縮の速さと ATP の消費の速さとの関係は前述のすべり運動の分子機械にすでにみられる関係である。特におもりが小さくて収縮が速いとき ATP の消費を下げるという制御はルースカップリングによるものである。この制御は以前は細胞内で必要な仕事量に応じて働かせる分子機械の数を制御することによって思われていたが、1 々の分子機械にすでにこの制御機構が備わっていたのである。分子機械の機能が細胞の機能に直結するという一つの例である。

なおべん毛モーターでは、オンオフスイッチがあるかどうかわかっていない。別にモーターの順回転逆回転のスイッチがある。そのメカニズムは不明である。

§ 9. 分子機械における生きものらしさ

すべり運動、回転運動の分子機械は自由エネルギー変換機械として物理の対象である。それは nm、pN、ms そして kT の世界で働く。熱ゆらぎが大きく、慣性がほとんどない世界で働く。われわれのマクロな機械とは質的に異なったメカニズムで働くのではないか。

ミオシンアクチンのすべり運動は筋肉収縮ばかりでなく、植物細胞内の原形質流動などのもとでもある。またミオシンアクチンの組合せ以外のすべり運動が生物細胞のあちこちでみられる。せん毛運動はせん毛の中のアクチンフィラメントに当たるマイクロチューブルとミオシン分子に当たるダイニン分子との間のすべりによる。細長い神経細胞軸索内の物質輸送は同じマイクロチューブルの上をふくろを背負ったキネシン分子がすべることによる。ダイニン分子とキネシン分子はマイクロチューブル上を反対方向へすべる。同じあるいは似た機能をもつ分子機械がちがう分子によって構成されている。すべり運動の分子機械には共通の基本的動作があり、普遍的メカニズムがあるのではないか。その一つのとらえ方としてルースカップリングの考え方があ

タンパク質分子はやわらかく、そのフィラメントもやわらかい。やわらかさが機能に必要であるように見える。分子機械の各分子の中で、分子の間で、また分子とまわりとの間で常にエネルギーがやりとりされている。分子の中、間の各部分のエネルギー、エントロピーはゆらいでいる。そのゆらぎが積極的に自由エネルギー変換のメカニズムの中にとりこまれているのではないか。それがやわらかい分子機械として入力に応じての

動作の制御、ルースさにつながるのではないか。

実際にガラス板上に固定されたミオシン分子の上をすべり運動するアクチンフィラメントを見るとそれがまるで生きもののようにみえる。うねうねとやわらかくはいまわったり、勝手にオンオフしながらとぶように動いたり。この生きものらしさのもとは何であろうか。

実験としても理論としてもタンパク質分子1ヶ、分子集合体1ヶ、分子機械1ヶの統計力学をつくらねばならない。平衡の統計力学ばかりでなく、自由エネルギー変換の統計力学を。タンパク質分子1ヶはすでに相当の複雑系である。ミオシンとアクチンの分子の立体構造は解かれている。それを考えに入れながら、分子機械の中に形成されるであろう”状態”をとらえることが重要ではなかろうか。

§ 10. おわりに

講義ではさらに他の分子機械について、特に定常的動作をする分子機械ばかりでなく、確率的動作をする分子機械とそれらの分子機械のつくるシステムについても話す予定である。生きものらしさの一つに自主性、自発性がある。そのもとは分子機械にあるが、それがシステムをつくった段階であらわになる。

このテキストでは生物物理の進み方の一つの例をのべたつもりである。生命現象のある部分を切りとって、生物からとり出した分子によってそれを生物の外で再現する。その現象を物理のことばで記述できれば成功である。生物の中にはじめから物理の問題があるのではなくて、問題を物理にする、あるいは物理としておもしろい問題にするのである。それには対象をしっかりと定義できるだけ生物学、化学の方法をもたなければならないし、現象の明確な定量的な記述のためには上の例のように新しい物理的実験方法をつくり出さなければならない。そして物理として問題をとこうとする。このとき既存の物理で間に合わないとなれば望むところである。問題をといたときに生きものらしさの一端がとらえられれば最高である。

生物共通に見られる現象もおもしろいが、1ぴきの生物のささいなふるまいも、特異な生物の特異な行動もおもしろい。もし、それらの現象のある面を物理にすることができればそれがもとはささいで特異に見えても、実は大きなひろがりのある現象につながることを意味する。生物物理はいまのところ問題解決というよりも問題提起の学問である。