

## なぜ「神は詳細に宿る」のか —水と生命—

若林 健之

帝京大学大学院・医療技術学研究科(理工学研究科 兼任)



「かがみ」は可視化の道具であり、「武士の鑑」や「大鏡」も、武士のあり方や過去の時代を教えてください。顕微鏡は微(詳細)を顕かにする。「神は詳細に宿る」ともいわれ、大切な「かがみ」といえる。

真核細胞はアクチンを含み、脳細胞、肝細胞などにも大量に存在する。筋肉以外の細胞では、約半分は単量体として存在し、残りはフィラメン

トを形成し、動的に重合・脱重合を繰り返す。

どの細胞でもアクチンフィラメントにはトロポミオシンが結合している。この棒状分子は、長さ40 nmの $\alpha$ ヘリックスの鎖(〜35 kDa)が2本撚り合わさって形成されるロイシンジッパーモチーフからなり、分子の中心部は両方の鎖からのロイシンなどの疎水性側鎖から形成されている。トロポミオシンとアクチンは1:7の分子比で結合する<sup>1)</sup>。撚り合わせの捻れ周期は11 nmで、ハーフピッチ5.5 nmはアクチンの分子長と一致する。トロポミオシンは7分子のアクチンに結合するのに、重合しないとアクチンに結合できない。

トロポミオシン重合の様子を見るための結晶解析(2.1 Å分解能)から、分子の両端に特別な仕掛けがあることが分かった<sup>2)</sup>。しかも、分子の2本の鎖(A鎖とB鎖)の対等な関係は破れていた。カルボキシル末端側では端から20-30 Åの領域でA鎖の湾曲が見られた。大腸菌発現で得たトロポミオシンなので、A鎖とB鎖のアミノ酸配列は同一である。

非対称化の鍵を握っているのは分子中心部の疎水領域にある一個の水分子で、A鎖の主鎖のカルボニル酸素と水素結合し、B鎖の主鎖との水素結合はない。これでは分子の対称性は保てない。X線結晶解析では分解能が3 Åから2 Åに向上すると、同定可能な水分子は10倍ほど増える。この水分子もこの過程で初めて見えるようになった。神は「詳細」に宿り、非対称性の理解への鍵を与えてくれた。湾曲部には横紋筋特有の配列があり、ロイシンジッパー構造を不安定化していた。トロポミオシンの横紋筋特有の性質は、カルシウム結合タンパク質であるトロポニンとの結合である。事実、トロポニン尾部との共結晶では湾曲した鎖(A鎖)とのみ結合していた。横紋筋特有の配列はA鎖を湾曲させ、トロポニン結合部位を構築し、その近傍の疎水領域にある水分子は非対称性の保持に役立っている。

トロポミオシンが重合する際には、湾曲しない方のB鎖が隣接分子と結合する。隣接分子では、アミノ末端から約

20 Å(14残基)の部分ではロイシンジッパーはほどこ、その一方の鎖のみがB鎖のカルボキシル末端に結合する。これは、特殊配列がアミノ端から20-30 Åの範囲に存在するためだった。特殊配列をロイシンジッパー配列に置換すると、アクチンに結合できなくなり、重合能が失われることを示している。アミノ末端にシステインを導入しS-S結合を形成させ、ほどこないようにしても、アクチンへの結合能は失われる。S-Sを還元すると結合能は復活する。アミノ末端領域の特殊配列の役割は、アミノ末端のロイシンジッパーをほどこき、重合を可能にすることであった。アミノ末端の配列を多くの種と細胞で詳しく比較すると、末端から30 Åまで(22残基)の保存が特に良いのは、この様な機能上の要請の為だろう。「詳細」に宿るのは幸運の女神かも知れない。

アクチン単量体に結合したATPは重合するまでは加水分解から保護されている。アクチン単量体の結晶構造を見ると、ATPの $\gamma$ リン酸の近くにループがあり、そのループ上のプロリン(残基109)は $\beta$ ストランド上のヒスチジン(残基161)とスタッキング相互作用している。

アクチンの重合機構を知るために、アクチンフィラメントの三次元構造をクライオ電子顕微鏡法で解き、これに結晶構造をフィットし、分子動力学的に精密化して、アクチンフィラメントの原子モデルを構築した<sup>3)</sup>。この構造ではプロリンとヒスチジンは離れていた。この変化を単量体アクチンでも実現するために、プロリンをアラニンに変異させ結晶解析(分解能2.4 Å)した。期待通り単量体のままでもATPは分解されADPとなっていた。野生型アクチンのATPの $\gamma$ リン酸の近傍には、同定できる水分子が12個ある。グルタミン(残基137)の $\epsilon$ 酸素と水素結合した水分子は $\gamma$ リン酸を求核攻撃すると考えられている。野生型では、この求核的水分子はヒスチジンの $\delta$ 窒素に水素結合した水分子とも水素結合し自由には動けない。変異型では、プロリンの変異によりヒスチジンが移動し、これら2つの水分子の間の水素結合は切れ、求核性水分子は自由となり加水分解が進行する。同じ水分子でも一つは反応を進める主体であり、もう一つの水分子は抑制していた。重合はそれを脱抑制し、ATPaseを活性化する。更に「詳細」なデータを与える結晶を育てて、他の10個の水分子の役割や、新たな水分子を見つけたい。

### 文 献

- 1) Ohtsuki, I. and Wakabayashi, T.: *J. Biochem.*, 72, 369-377 (1972)
- 2) Murakami, K. et al.: *PNAS*, 105, 7200-7205 (2008)
- 3) Murakami, K. et al.: *Cell*, 143, 275-287 (2010)

若林健之 (Takeyuki Wakabayashi)

略歴

- 1965年 東京大学医学部卒業
- 1970年 同大学院修了(医博)
- 1970年 王立協会交換フェロー(MRC分子生物学研究所, ケンブリッジ)
- 1972年 同研究所・短期研究員
- 1973年 東京大学理学部助手
- 1981年 同 助教授
- 1988年 同 教授
- 2001年 同 名誉教授
- 2001年— 帝京大学理工学部教授
- 2008年— 帝京大学医療技術学部教授
- 2012年— 同大学院医療技術学研究科教授