

スパズモネームを含むバイオモーター器官に共通した 蛋白質系の構造と機能について

浅井 博 (早稲田大学・院理工・生命理工)

Structure and function of general motor proteins systems for motility, including the spasmoneme in Vorticellidae stalk

Hiroshi ASAI

(Integrative Bioscience and Biomedical Engineering, Graduate School of Science and Engineering,
Waseda University)

SUMMARY

We presents a concept for the contractile mechanism of the Ca^{2+} -driven motor protein (spasmin) and its receptor protein (spaconectin) in the bundle of 3-nm filaments composing the Vorticellidae spasmoneme. The Ca^{2+} -binding protein, spasmin, belongs to the calmodulin superfamily and has an EF-hands structure of four or less. Any motor protein must have its own receptor protein for the transformation of ligand-binding or ligand-hydrolysis energy into work or force. It was recently revealed that the molecular weight of spaconnectin, tentatively the receptor protein of spasmin, is 190–200 kDa for the tetrameric form in the *Carchesium* spasmoneme, 90–100 kDa for the dimeric form in the *Zoothamnium* spasmoneme, and 50 kDa in the *Vorticella* spasmoneme. The large conformational change of the spasmoneme during its contraction and stretching is due to entropically elastic spaconnectin but not to spasmin. The concept of the Ca^{2+} -driven contractile mechanism of a Vorticellidae spasmoneme system as a bio-ratchet can be applied to the ATP-induced contractile mechanism of the myosin II and V systems, as well as the dynein-kinesin systems.

[目的] ツリガネムシのスパズモネームは、 Ca^{2+} -駆動収縮性3 nm フィラメントの束から構成されている。その主要な役割を演じるタンパク質は、 Ca^{2+} -結合蛋白 (モータータンパク質としてのスパズミン) である。その他に、収縮のための相補的な役割をするエントロピー弾性的な受容タンパク質 (仮にスパコネクチンと名付ける) があることがほぼ明らかとなった。スパコネクチンの分子量は、ヴォルチケラでは基本ユニットとしての50 kDa であり、カルケシウムでは、四量体的 (190-200 kDa)、ゾーサムニウムでは二量体的 (90-100 kDa) であった。ただし、ゴムの架橋剤に相当する脇役を演じる蛋白はまだ見付かっていない。本論文では、バイオモーター系およびバイオラチェット系としてのスパズモネームのエントロピー弾性的な収縮・伸長の機構を論じる。また、ミオシン II やミオシン V に代表される筋肉収縮やダイニン/キネシン系にも共通するモーター蛋白質系一般の持つべき必要および充分条件について

述べる。

[材料と方法] Ca^{2+} 存在下および非存在下におけるスパズモネームの力学的性質についての研究材料には、巨大ツリガネムシ (*Zoothamnium arbuscula* strain Kawagoe) が使用された。そのタンパク質の研究は、材料入手不足のためあまり進んでいないが、そのスパズミン受容タンパク質 (スパコネクチン) の分子量は、90-100 kDa であることは分かっている。しかし、その一次構造がコネクチン/タイチンに似ている筈というわけではない。*Carchesium* sp. のスパズミン受容タンパク質の分子量は、和光純薬製の蛍光性のSH残基修飾試薬 (DACM) に反応し、スパズモネーム収縮性を阻害されるタンパク質として同定された。また、*Vorticella* strain Tianjin. のスパズミン受容タンパク質の分子量は、ヒスティゼン残基修飾試薬である diethyl-pyrocyanate (DEPC) に反応し、GST-spasmin と結合するタンパク質として同定され

た。有名なファイマン力学の教科書に記載されている爪車と歯止め (pawl/ratchet) の機構とスパズモネーム収縮とを対比させる。これは重りで駆動される振り子式柱時計と似ている。また、蒸気タービンの原理であるカルノーサイクルの体積 vs. 圧力関係の図式が示される。さらに、ミオシンやダイニン/キネシンの運動モデル図も登場する。

【結果と考察】 ファイマンの温度差駆動ラチェットは、重りで駆動される振り子式柱時計と似たものであるので考え易い。温度差の代わりに重力がエネルギー源となっているだけである。温度差で駆動されるエンジンに、蒸気機関車がある。カルノーによって、注入エネルギーの仕事への変換効率も計算できるようになった。温度差エネルギーや重力エネルギーに相当するのが、ツリガネムシのスパズモネームにおいては、 Ca^{2+} のスパズミンへの結合エネルギーである。スパズモネームの収縮は、約1マイクロモラの自由 Ca^{2+} 濃度で起きるので、ATP の ATP アーゼへの結合または加水分解エネルギーとほぼ同じ値になる。ちなみに、ATP の分解エネルギーの大きさは常温における8原子/分子の3次元的な運動エネルギーにほぼ等しいことに留意したい。これらの基質のタンパク質への結合に伴う発生エネルギーの主なものは、内部分子・原子間の相互作用エネルギーすなわちポテンシャルエネルギーである。一般に熱力学的自由エネルギー (F) は、ポテンシャルエネルギーとエントロピーエネルギーからなる。すなわち、 $F = E - T \cdot S$ 、また力 P は、 $P = (\partial E / \partial \lambda)_T - T \cdot (\partial S / \partial \lambda)_T$ ここで、 $S = k \cdot \log W$ であって、ガスやゴムの場合には、この項のみが顕著になる。W は、同じエネルギー状態の場合の数である。ここでは状態和とも云える。0) モーター系は、運動のためのエネルギー受認分子 (acceptor) とそれをマクロな系に伝えるエネルギー受容系 (receptor) とからなる。ガスの場合は、熱運動をするガス分子が acceptor であり、receptor はピストンや容器の壁である。ゴムの場合は、熱平衡の状態で大構造変化を起こす鎖状高分子と架橋剤とからなる。スパズモネームの場合には、スパズミンが acceptor protein (モーター蛋白) であり、50 kDa 蛋白質が energy receptor protein である。ミオシンやダ

イニン/キネシンも当然モーター蛋白の典型である。注意すべきことは、ヘモグロビンやカルモデュリンもモーター蛋白である。何故ならば、基質結合によってある大きさの構造変化を起こすからである。1) スパズモネームの3 nm フィラメント中のスパズミンに Ca^{2+} が結合すると、スパズミンの構造が多少変化する。変化は、カルモデュリンに似ている。さらに、近くにスパズミンが存在すると、2量体になり易いことも溶液X線小角散乱や蛍光相関スペクトロスコピーの実験から分かっている。2) Ca^{2+} -結合のエネルギーは、相補的な役割をする50 kDa 受容タンパク質に伝播され、その歯止めが外されると同時にエントロピー的な力または収縮のエネルギーに変換される。3) Ca^{2+} 非存在下での50 kDa 受容タンパク質は、 α -ヘリックス構造を部分的に保持している。内部エネルギーとしては、水素結合のエネルギーと疎水結合/van der Waals 力のエネルギーの平衡と転移が保たれているであろう。イオン結合エネルギーはあまり関与していないだろう。イオン強度を変化させても、スパズモネームの収縮・伸長の状態がほとんど変化しないからである。4) Ca^{2+} 非存在下でスパズモネームを伸長すると、50 kDa 受容タンパク質のヘリックスが解けてランダム構造になり易い。一種の結晶融解反応である。 Ca^{2+} 存在下では、伸長度に係わらずランダム構造のままである。5) Ca^{2+} のスパズミンへの結合力は、50 kDa 受容タンパク質の状態に関連している。すなわち、50 kDa 受容タンパク質の高伸長状態では、結合力は弱くなる。これは、ルシャトリエ・ヴラウンの原理にも合致する。したがって、3 nm フィラメントは、機械受容器にもなる。6) スパズミンから Ca^{2+} が離脱すると、スパズミンと50 kDa 受容タンパク質は元の構造状態にもどる。これで、熱や重力ではなく、 Ca^{2+} 駆動のカルノーサイクルが完結することになる。1) から6) までの過程は、ATP の一分子結合・分解過程におけるミオシンVのFアクチン上の歩行手順にも適用できる。また、ミオシンIIの場合には、歩行の途中で、前方を探る併進のブラウン運動、したがってエントロピー運動、が関与する。前者のHメロミオシンの首部分のちょうつがい関節 (hinge point) は、併進拡散ではなくて、回転拡散である可能性が高い。その大きさが張力に依存するこ

ともスバズモネーム運動が手本となる。上記の言わば、 Ca^{2+} 駆動によるモータータンパク質系の運動の分子メカニズムは、ATP 結合・加水分解によるミオシン/ダイニン/キネシンモータータンパク質系の運動の分子メカニズム解明に示唆を与える。極論すれば、基質が異なることと、その自由エネルギー変換において、その第1項と第2項の分配の違い、すなわち、モータータンパク質系の内部構造変化の違いのみである。以上述べてきたように、一分子計測をすることなく、ツリガネムシの Ca^{2+} 駆動スバズモ

ネーム系の分子運動のための構造と機能がほぼ解明されたことは、他のすべてのバイオモーター器官の分子メカニズムの解明へ基本的な未知と道を示唆するものと信じる。

[文献]

- 1) 浅井 博 (2005) 日本原生動物学会誌, 38: 133-152.
- 2) Fang, J., Nakajima, J., Itabashi, T. and Asai, H. (2005). *Jpn. J Protozool.*, 38:101-102.
- 3) 浅井 博 (2001) パリティィ、3月、pp. 36-39