

(東大・教養・生物)・毛利秀雄

"Microtubule" (微小管) という言葉は, Slautterback (1963) がゲルタールアルデヒド固定のヒドラの細胞を電子顕微鏡で観察してみつけた, 直径 200 \AA 前後の微小な小管に用いたのが最初である。それ以来 Porter のグループをはじめとする多くの人々の努力によって, 微小管についての知見は急速に集積してきた。今日では微小管が動物植物界を問わずきわめて広く存在する微細構造であることが知られており, また分裂細胞の紡錘体や星状体, 鞭毛や繊毛で観察されていた $9+2$ 構造, あるいは繊毛虫のテトラヒメナのいわゆる口部なども, この微小管がある特定のパターンに配列したものに他ならないことが明らかになっている。微小管の働きとしてはまだ何一つとして確定されたものはないといつてよいが, その存在場所や様式から細胞の構造維持, 細胞内の物質の移動, 細胞分裂や鞭・繊毛運動などの細胞運動, 形態形成や分化などいろいろな生命現象に関与していると考えられている。微小管には鞭・繊毛や神経繊維にみられるもののように比較的安定なものもあるが, 細胞の働きに応じてある特定の時期にだけ特定の場所に現われ, やがて消滅してしまうものが多い。

これまでの観察によると, 微小管はその壁が13本の直径 $40 \sim 50 \text{ \AA}$ のサブ・フィラメントより成り, 各フィラメントは直径 $40 \sim 50 \text{ \AA}$ の球状単位がまっすぐたてに連なったもののように見える。しかし微小管の側面に観察される横しまは 10° ほどの傾きをそっているので, 微小管は球状単位がらせん状に配列して構成されていると考えの方がよさそうである。このような構造は, やはり直径 50 \AA ほどの球状単位が横断面で8または10個みえるように連なった管である, 細菌の鞭毛にきわめてよく似ている。

一方 Gibbons (1963) がテトラヒメナの繊毛の各構成成分を分離することに成功して以来, 鞭毛や繊毛から微小管をほぼ純粋にとりだすことが可能になり, われわれを含むいくつかの研究室でその物理化学的性質が調べられてきた。それによると微小管を構成する蛋白質は分子量やアミノ酸組成などの点で筋肉のアクチンによく似ているが, ミオシンとの相互作用や *guanosine nucleotides* と結合していることなどからアクチンとは異なる蛋白質であろうと考えられ, われわれはこれをチューブユリンと呼ぶよう提唱している。上述の球状単位はおそらくチューブユリンのモノマーに相当するものと考えられる。細菌の鞭毛を構成するフラジエリンとはアミノ酸組成をまったく異にしている。

ところで微小管すなわちチューブユリンの重合, 脱重合の条件をみいだすことは, 単にこの蛋白質の物理化学的性質を調べるという観点からのみでなく, 生体内における微小管の生成消滅機構やその働きを知る上にきわめて重要である。アクチンの場合の $G \rightarrow F$ 転換はよく知られた実験事実であるし, またフラジエリンモノマーの鞭毛への再構成に関しては朝倉ら (1964) のすぐれた研究がなされている。そこでわれわれもウニ精子の鞭毛からえられる微小管を材料に用いて, アクチンやフラジエリンで成功した方法を応用して, 微小管をチューブユリンモノマーにまで脱重合しまた微小管を再構成しようといろいろ努力してきたが満足すべき結果をうるに至らなかった。

この問題の解決に一応の成功をおさめたのは Stephens (1968) である。彼は低温で

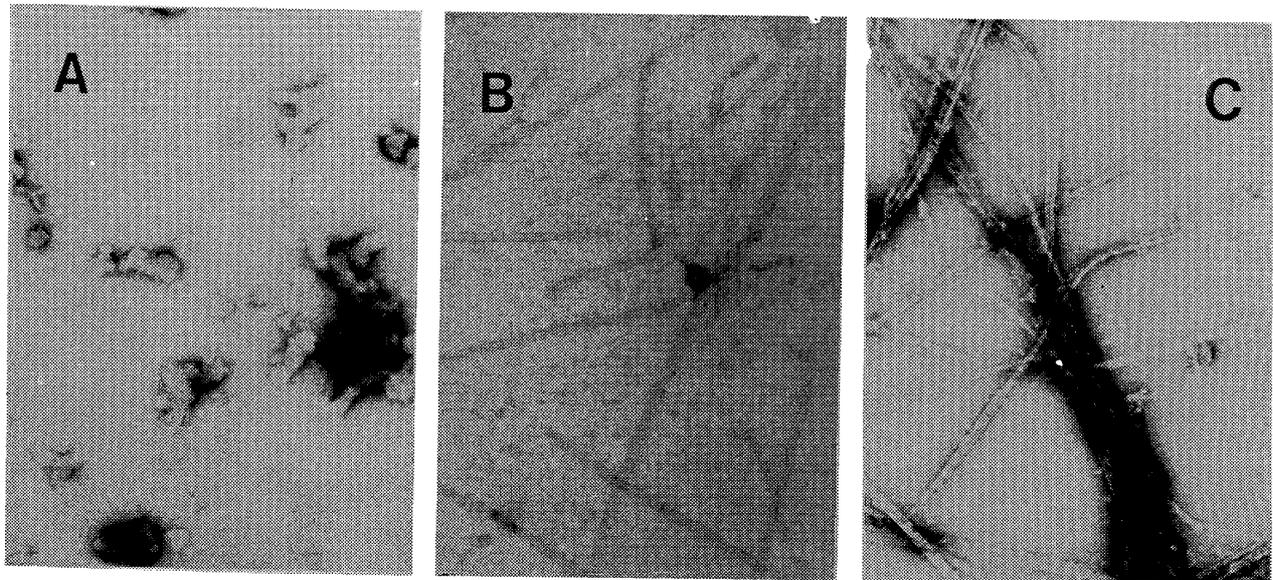


図1 ウニ精子の微小管の再構成。A. 微小管を0.5%サルコシルで溶かしたものを35,000Xg, 15分間遠心した上清。B. 前者を10倍の蒸留水で稀釈したもの。C. さらに0.1M KClを加えたもの。

も沈殿を生じないdetergentであるサルコシル(Na lauroyl sarcosine)を用いてウニ精子の微小管をいったんばらばらの低分子の状態に溶かし、これを水で10倍に詰めることによりリボン状の集合体を、さらにこれに塩を加えることにより微小管状のものを作った。この際GTPを加えることがどうしても必要であるとされている。図1はわれわれがこちらのウニを用いて追試した結果で、ほぼ彼がのべている通りとなった。ただ最後の所でほんとうに管ができたかどうかは疑問で、リボン状のものが側面同士でくっつき合ったに過ぎないように思われる。この真は超拵切片で断面を確かめてみなければわからない。この方法の難点はサルコシルを用いなければならぬことでもノマーまたはオリゴマーがどういう状態にあるかの十分調べることができない。

一方渡辺らは微小管の集りであるテトラヒメキサナク口部をN/10 NaOHで溶かして3.5Sのサブユニットを之、これをpH 8.5まで下げてきた所で低濃度の塩を加えると、繊維状のもの、それが側面でくっつき合って膜状になったもの、時には微小管状のものがえられることを報告している。これらの集合体はどれも蛍光物質でラベルされた抗繊維毛微小管血清で光るといふ。

ごく最近われわれはウニ精子鞭毛のアセトン粉末よりアクチンを抽出することを試み、やはりアクチンと認められるものはえられないことを見つけた。その際同粉末をpH 10.5で抽出したものを超遠心にかけて微小管の断片などを除いた後pH 8.2のトリス緩衝液に対して透析したところ、チューデュリンの繊維状ないしリボン状の集合体をうることができた。さらに完全な微小管を作るためにはGTPや塩を加えるとか、あるいは重合のタネになるような微小管の印水端を加えることなどが必要であると思われるが、これらの真については目下検討中である。もしこの方法がうまくいけば、サルコシルを用いないですむことや、アセトン粉末を用いればよいなどの利点があり、解析が楽になるものと期待される。とはいえ生体内で微小管の重合、脱重合を調節する因子は何かという問題の解決はまだこれから先のことである。