

オープニングセッション

脂質膜から細胞の膜へ、スピンドラベル法による

オーガナイザー：谷本博一（東大・理）

講師：大西俊一（京都大学名誉教授）

オープニングセッションの講師は、元生物物理学会会長で、今年の分科会のテーマの1つである「人工・生体膜」がご専門の大西俊一先生です。

大西先生は留学先で DNA などの生体高分子の物性を研究された後、京大理学部の生物物理学教室で研究室を立ち上げられました。そこで研究対象を高分子から膜に変え、人工・生体膜の物性、また細胞膜上から細胞内部への物質の取り込みであるエンドサイトーシス過程の研究をされました。このような大西先生の研究は、物理と細胞生物との境界領域を切り開くものです。

生物物理の特色はさまざまなバックグラウンド・価値観の人が集まる、そのヘテロさにあると言われます。今年の夏の学校でも、「脳・意識」、「人工・生体膜」、「システム生物」というテーマについて、それぞれ大きく異なるアプローチをとっている先生方をお招きしています。

しかし、そのようなヘテロな研究を個人でされた方はほとんどいないのではないのでしょうか。生体膜の物理的な性質を踏まえ、その生理的な機能であるエンドサイトーシスへと研究を進められた大西先生は、個人でヘテロな研究をされた数少ない方です。

講義では先生の研究の個人史とともに、生物物理の面白さをお話して頂けると期待しています。

脂質膜から細胞の膜へ、スピララベル法による

京都大学名誉教授 大西 俊一

老人の研究回顧録であり新味は無い。

1 生物物理以前の研究

大学を卒業したがうまい就職口がない(1953)。数年後に日本放射線高分子研究協会が設立され、その研究員に採用された。電子スピン共鳴 (ESR) の装置を買って頂き、いろいろな高分子に放射線を照射したときに生成するラジカルを研究することになった。熱心の実験する。新しい論文も出版される。国立大学にも放射線化学の講座が出来るようになり、京都大学に助教授として採用された。その頃 Stanford 大学に行き McConnell 教授と研究を行う。彼は共重合体に生成するラジカルを示唆したが、私は新しいテーマに移りたく、ラジカルによる生体高分子の研究を申し出る。

2 スピララベル法の開発

水溶液で安定なラジカルが必要である。ある時 McConnell はクロロプロマジン cpz (精神分裂症の薬) を手に入れてきた。酸化剤を加えるとピンク色になりラジカルが生成する。これを DNA の溶液に入れると、二重らせんの塩基対の間に cpz が挿入されることを見付けた。もっと安定なラジカルとしてニトロシド類が合成される。

日本に帰ってからスピララベル法による研究を考える。ニトロキシド類の合成から始める。脂質実験用として PC* (スピララベル脂肪酸を結合させたホスファチジルコリン) などを合成した。

3 リン脂質膜の相分離

ホスファチジルセリン PS と PC* を混合し膜をつくる。それに Ca を加えると ESR スペクトルが変化し線幅が増大する。これは膜内で PC* が集まることを示す。Ca が PS に結合し PC* (流動相) と分離することを意味する。

4 ウイルスと細胞の融合

1) センダイウイルス (HVJ) HVJ を PC* 小胞と混合する。するとウイルスの膜に PC* が挿入した HVJ* が得られる。HVJ* を細胞 (具体的には赤血球 RBC) に吸着しインキュベーションすると、ESR スペクトルが変化し線幅が減少してくる。これはウイルスの膜と RBC の膜が融合し、PC* の濃度が減少することを意味する。RBC* と RBC に HVJ を加えインキュベーションすると、矢張り線幅が減少する。これは細胞融合を意味する。これらはすでに電子顕微鏡などで明らかにされていたが、それをスピララベルでも明らかにした。この場合は速度論的解析もできる。

2) インフルエンザウイルス (IFV)

i) 中性では融合しないが酸性で起こる 助手の前田君は次にスピララベルインフルエンザ IFV* で実験してみた。しかしこの場合はスペクトルに何の変化もない。融合しな

い。ある時 pH を変えてみた。酸性になると融合を起こし、pH5 で最高値になる。センダイウイルスでも pH を変えて実験すると、中性でも酸性でも同じように融合する。インフルエンザの酸性での融合は、体液は中性であるので何を意味するのだろうか？

ii) エンドサイトーシスで取り込まれ、エンドソームで融合する インフルエンザを MDCK 細胞に吸着させインキュベーションし、どのように変化するかを電子顕微鏡で調べた。ウイルスは被覆ピット（細胞膜の一部）に集まり、それが内部に陥入しエンドソームに入る。37°C30 分経過するとリソソームに現れる。次に蛍光色素（フルオレッセイン）でラベルした IFV を使って実験する。ウイルス周辺の pH を、異なる励起波長で測定した蛍光強度値から測定する。その結果 37°C10 分までに pH が減少し 5 になる。ウイルスはこのエンドソーム内の時に融合し、ゲノムを細胞質に移し、増殖することが示された。リソソームも内部 pH は 5 であるが、それまでに起こるのである。Freeze-fracture 電子顕微鏡により融合機構も研究した。

膜系の変換と動的平衡状態

エンドサイトーシスでは、外部物質は細胞膜からエンドソームへ、エンドソームからリソソーム、細胞膜に輸送される。膜系は次々に変換するが、それらの面積は常に一定（動的平衡状態）である。エキソサイトーシスでは、タンパク質は小胞体膜、ゴルジ体膜、細胞膜に小胞により輸送される。これらの膜系もお互いに変換し動的平衡状態にある。生体分子そのものも（タンパク質、脂質など）絶えず分解され再生される。動的平衡状態にあるのが生命の神秘的なのだろうか？