



## わたしの研究 ⑤1

テーマ

# 顕微鏡と私

本研究所研究員  
豊田 直二  
(生命と環境)



私の研究は生き物を見ることです。見るというのは肉眼で見る、虫めがねを使って見る、光学顕微鏡を使って見る、電子顕微鏡で見るということです。この4つの方法で見た研究を大きくとらえると解剖学となりますが、肉眼や虫めがねで広範囲の生物を見た研究は博物学となります。顕微鏡を使った研究は形態学と細分されます。

電子顕微鏡は1万倍から10万倍程度に倍率を高くして見ることができます。電子顕微鏡は解剖学でも盛んに使われ、生物学的にも数々の業績を残しています。電子顕微鏡を使った研究はやがて細胞生物学へと発展してゆきます。

私の分野では筋肉ですが電子顕微鏡観察では過去の学説をひっくり返すようなことがありました。横紋筋には縞模様があるけど蛋白質は1種類でゴムやバネのように縮むということが信じられていました。これはドイツのT. W. エンゲルマン (1843-1909) という学者の考えが影響しています。当時の観察ではそのように見えたのでしょう。エンゲルマンは横紋筋の縞模様を現在のように整理した人です。また植物の光合成でも素晴らしい成果

をあげた学者です。

それから約50年後、H. ハックスレーとJ. ハンソン (1953) は電子顕微鏡を使って筋肉を観察し、細いフィラメントと太いフィラメントの2種類有り、これらのフィラメントが互いに滑り込むようにして収縮がおこると発表しました。多くの研究者はこの新しく斬新な発表にショックを受け、また疑いを持っていたようです。現在は太いフィラメントはミオシンという蛋白質、細いフィラメントはアクチンという蛋白質ということが分かっています。

実は筋の研究にはハックスレーという名前の人物が2人います。もう1人のA. ハックスレーは別の理論からミオシン分子の頭部が動き、アクチンフィラメントをたぐり寄せるという滑り説を出しました。2人のハックスレーの出した滑り説は現在受け入れられ、教科書などに出ています。ちなみにA. ハックスレーは神経の活動電位の伝達でも優れた業績をあげ、ノーベル賞を受賞しています。滑り説でもノーベル賞を受賞し、合わせて2つのノーベル賞を受賞しています。H. ハックスレーはノーベル賞は受賞しませんでした。それに値する素晴らしい成果をあげています。

滑り説で筋の収縮は説明されましたが、ほかにまだ重要な未解決テーマがありました。「足や腕はどのようにして自分の意思どおりに動くのだろうか？我々が動かそうと思うと普通に動くのはどうしてだろうか？神経の連絡はどのように筋に伝わり、収縮につながるのだろうか？」というテーマです。これにはアクチンフィラメントに存在する蛋白質、トロポミオシン、トロポニンが重要な働きをすることが明らかになりました。日本人の江橋と児玉 (1966) が重要な研究をしています。江橋はトロポニンを発見し、トロポニンにカル

シウムが結合するとアクチンフィラメントがねじれ、ミオシンと反応して収縮が起こることを証明しました。

私の大学院時代の研究もこのトロポニンでした。トロポニンに対する抗体を作り、筋組織切片にのせ染色していました。蛍光抗体法といいます。観察しますと心臓と骨格筋では発生に伴ってトロポニンの質的变化があるという結果でした (Journal of Cell Biology 1981: Cell 1983など)。論文は投稿すれば何でも掲載されるわけではありません。論文を学術雑誌に投稿すると通常2人に査読されます。その結果をまとめてレフリーが受理 (アクセプト) あるいは差し戻し (レジェクト) を判定します。たいてい論文に修正や説明を加えるよう指示が有り、再投稿すれば受理され、印刷されます。これは日本の学術雑誌も同じです。

英文の学術雑誌には順位があります。科学に与える影響の順位でインパクトファクターといいます。年間の発行部数と引用率で決まります。インパクトファクターは0.00-43程度です。数字が増えるほど掲載が難しくなります。英文雑誌に投稿すると判定は次のように「この論文は…に関する新しい結果で掲載に値する。」とか「すみませんがこの論文には新しいものが無く、掲載できません。」などなど明確な返事が返ってきます。とても厳しいです。幸い私の論文は指導教官に充分修正していただき、かなり上位の学術雑誌に掲載することができました。

さて今の私の研究ですがニワトリ胚を材料にして心筋を培養しています。心臓を取り出しトリプシン処理をし、細胞をバラバラにしてプラスチック皿にまきます。心臓が拍動することは常識ですが、培養心筋細胞は一個でも拍動しています。細胞が離れている時は、早く拍動する細胞も有り、遅く拍動する細胞

も有り様々です。しかし細胞が接触するとその細胞たちの拍動は同調します。それを顕微鏡下に見ているとおもしろく飽きません。この拍動はどのように起きるのか、さらに横紋筋の横紋構造はどのように形成されるのかについて調べています。

調べる方法は細胞内から一成分 (1蛋白質) を抜いてみるというものです。もし蛋白を減少させることで横紋構造や拍動に異常があればその蛋白質が重要な役割を果たしていることとなります。トロポニン-Tを減少させると細胞の形や拍動に変化がありました (Toyota et al., 2008)。トロポミオシンを減少させると横紋構造に変化が有ります。これは現在詳しく調べているところです。

一方で、心筋細胞に1蛋白質を過剰に増加させた場合に、横紋構造に異常があればその蛋白質が重要な役割をしていることがわかります。この過剰発現実験ではトロポニンが選別されることが分かりました。心筋のトロポニン-Iを骨格筋に発現させると骨格筋の横紋構造に取り込まれず、骨格筋は骨格筋のトロポニンのみを取り込みます。これだけで横紋構造の形成を明らかにすることは出来ませんが、さらに多くの蛋白質で試み、追求したいと思っています。

前の方で蛍光抗体法と言いましたが、この実験には蛍光物質を使います。この方法では暗い顕微鏡の視野にラベルした部分 (抗体の結合した部分) が緑色、赤、青に輝きます。横紋の特別な部分を染めると、非常に綺麗に輝きます。この顕微鏡は蛍光顕微鏡と言います。約1,000倍で見ることができます。現在の研究には不可欠な装置です。動画にして細胞内での蛋白質の動きを撮ることも出来ます。その他の共焦点顕微鏡などもあり、光学顕微鏡もますます発達し、細胞科学の進歩に貢献してくれると思います。