2SMB2-2

ミオシンレールの上をアクチン繊維が走る。
—*in vitro*で滑走する繊維の運動制御機構—
○本多 元（長岡技術科学大学、生物系）

本講演ではミオシンがアクチン繊維が滑る為のレールを形成しており、張力発生の担い手はアクチン繊維であることを提案する。

まず、我々は、顕微鏡下で滑り運動を示すアクチン繊維の横揺れを測定した。テレビ画像をコンピューターで解析することで、8 nmの位置決定精度が得られた。測定された横揺れの大きさはATP濃度上昇に伴って増加し、その増加の仕方は、同じ条件におけるacto-HMMのATPase活性とびつたり一致した。我々の測定した横揺れは、1~5 μ M ATPの条件で、繊維の進行方向に向かって伝播していた。この事実は、伝播しているのは力学的運動であることを示している。次に、一般的な運動観察系では、繊維の滑り速度や、動いている繊維の割合しか問題にしないので、実験者の勘に頼って、適当な時間間隔を設定し、滑り速度を測定している。我々は、1/30、1/15、1秒などの時間間隔で移動変位とその方向を調べた。0~5 μ M ATPの範囲では、移動変位は等方的に増加したが、それより高濃度のときは、変位の大きさは変わらず、方向が繊維前方に揃っていく事がわかった。

1/30秒間にミオシン頭部が分解できるATPは多くても一つだけである事と、上記の結果を考え合わせると、アクチンがミオシンから得たエネルギーは必要だけすべてアクチン繊維中に力学的エネルギーとして変換されており、アクチン繊維はミオシンが作ったレールの上を繊維自身の構造異方性にしがたって一方向に滑っていくという仮説が成立する。この意味で、アクチン繊維はMechanical Regulatorであり、滑り運動を引き起こす際に、ミオシン頭部から力を受ける必要は全くないことになる。トロポニンや、トロポミオシンを含んだ系に於いては、この傾向はさらに著しく現れる事がわかっている。

アクチンは単なるレールどころではない。アクチン繊維こそ張力発生の装置ではないだろうか。

H. Honda : Sliding of actin filament along the myosin rail

2SMB2-4

Compliantなアクチン：あなたはforce generatorですか？

○若林 克三（大阪大基礎工生物工）

1994年我々のグループとH.Huxleyのグループによって、力発生中の筋肉において細いアクチンフィラメントが0.3-0.4%純弾性的に伸びていることがX線回折によって明らかにされた。これは、アクチンフィラメントのcomplianceがサルコメアの全complianceの60%に相当することを示すものであった。この発見は筋収縮メカニズムのクロスブリッジモデルに基本的な面から修正を迫るばかりでなく、アクチンフィラメントがforce generatorになっているかもしれないという新しい展開を生み出すきっかけとなった。

我々のX線解析から、収縮中ミオシンとの相互作用によってアクチンのドメイン構造の変化が起こされていることが及び伸展性にアクチンフィラメントの捻れ変化が関係していることがわかってきた。時分割測定からアクチン反射の強度変化は力発生に先行するが、伸展性は平行的に起こることも示唆された。これらのことは、最近の時間分解能を上げた収縮筋の急速筋長変化の高速X線回折実験（J.Bordasら（1999））でも確認され、強度変化と伸展性が張力変化と興味ある形で共役していることが分かってきた。ATPのエネルギーで励起されたミオシンによってアクチンへエネルギーが注入され分子変化を誘起し、この分子変形がミオシンに働く力のポテンシャルを方向性ある形に変えフィラメントの伸展を促進していると考えられる。

これらのことを総合すると、筋収縮においてアクチンフィラメントは単なる力の伝達体（レール）でなく、もっと積極的な役割を果たしている。ミオシンとの相互作用によってenergizedされた細いアクチンフィラメントの伸展と短縮こそが収縮力の主因になっているにちがいない。「レールがレールでなくなる時」は間近い。

K.Wakabayashi : Actin compliance: Are you the force generator in muscle?

2SMB2-3

微小管はキネシンの運動方向を誘導しているか？

○武藤 悦子（科学技術振興事業団・さきがけ）

ATP存在下でキネシンが微小管上を運動する際、その結合は微小管上数 μ mという広範囲にわたって協同的に起きていた（下図、第34回生物物理学会年会予稿）。ATPがない時には協同的結合は起こらないので、微小管はこれまで考えられてきたように単なる受身のレールではなく、そのダイナミクスが運動に積極的な役割を果たしている可能性が示唆されている。

その1つとして、もしも微小管のキネシンに対する親和性がキネシンの進行方向に向かって増大していれば、この親和性の勾配がキネシン分子の運動方向を誘導していることが考えられる。実際に協同的結合の方向性を解析した結果、結合は等方的ではなく、キネシンの進行方向前方では後方に比べ3~4倍の結合があることが明らかになった。最近の岡田らの報告によれば、単頭キネシン1分子も微小管上を1 μ m以上連続して動くことができ、その動きの起源はブラウン運動であることが示唆されている。これらの結果を併わせて考えると、微小管はキネシンに対してポテンシャル勾配を作ることによって、そのブラウン運動を一方向にバイアスしている可能性がある。

キネシンの微小管への協同的結合（0.4秒ごとの連続写真）

E.Muto : Does microtubule give a potential bias necessary for the directional movement of kinesin?

2A1315

アポカルモデュリンの溶液構造の熱安定性

○横打 剛¹、三保 信之¹、神保 雄次¹、和泉 義信¹、能野 秀典²（¹山形大・院理工、²札幌大・化学）

【目的】カルモデュリン（CaM）は、熱に対して比較的安定な低分子量のタンパク質である。Ca²⁺非存在下でのCaM（apoCaM）はCa²⁺飽和CaMより熱安定性が低下する事が知られている。本研究では放射光小角X線散乱（SR-SAXS）法でapoCaMの溶液構造の熱安定性を調べた。

【測定】apoCaMはTCA法にて牛脳より抽出・精製した。SR-SAXS測定はKEKの酵素回折計で、25℃~85℃の温度範囲で行った。得られた実験データは回転半径（Rg）とKratkyプロットで解析した。

【結果・考察】

Rg値は35℃付近、55℃付近及び75℃付近に境に変化が生じた。Privalov一派の過去の研究では35℃前後でC-ドメインが融解し、55℃前後でN-ドメインが融解すると報告しており、本研究の結果は彼等の実験結果と融解温度に関する限り同様の挙動を呈した。実際にはドメインだけで無く中央ヘリックスの構造変化も関与すると考えられるが、Privalov一派はその点については言及していない。一方Kratkyプロットの温度変化を調べると、35℃と65℃を境にKratkyプロットの形状に変化が見られた。これらの変化がPrivalov一派の言う様に、低温領域でapoCaMのドメインの構造が変化し、高温領域で唾鈴型構造がほどける形態変化に対応するかどうかは現在検討中である。また、25℃から85℃に加熱して5分放置した後に25℃に冷却したapoCaMのKratkyプロットは加熱前とはほぼ同様の形状を示した。一方、85℃に加熱して15分放置後、25℃に冷却したapoCaMのKratkyプロットは、加熱前と大幅に異なりかなりほどけた構造を取っている。長時間の高温処理等でapoCaMが一端完全にランダムコイルとなると、もはや戻らない事が示唆された。

T.Yokouchi, N. Miho, Y. Jinbo, Y. Izumi, and H. Yoshino : Thermal stability of apocalmodulin