1E1015

ATPとAMP-PNPが存在しているときのアクチン繊維の滑り運動

○坂牧 潤一¹、本多 元¹、羽鳥 晋由¹、嶋田 勝彦²、松野 孝一郎¹ (¹長岡技術大・生物、²名市大・芸術工)

アクトミオシンの結合状態には、弱い結合と強い結合の2状態があるとされている。滑り運動は、様々な中間状態によるバランスの維持で起こっている。我々は、このバランスの維持が滑り運動発生過程をどのように仲介しているかを調べた。これは、運動の分子機構を解明するための一つの課題であると考えた。本研究では、ATPとATPアナログが共に存在する条件において、骨格筋ミオシン上を滑るアクチン繊維の運動を観察した。ADPを加えると、アクチン繊維の滑り速度は50%程度減少し、AMP-PNPを加えると逆に滑り速度は20%程度増加した。また、まだらアクチンを用いてrigor状態そしてADPもしくはAMP-PNPのみが存在している状態でのアクチン繊維の進行方向とその垂直方向の変位を測定し、その値のばらつきに変化はなかった。しかし、ATP存在下でAMP-PNPを共存させると進行方向の変位の揺らぎに変化が見られた。これが速度増加に関係しているものと思われる。力を発生しない結合状態では、複数のクロスブリッジ間で協同性は無く、逆に活性化状態のクロスブリッジがある時には、スムーズな滑り運動のためにアクチン繊維に歪みが生じるなどの協同性があるのではないだろうか。

J. Sakamaki, H. Honda, K. Hatori, K. Shimada and K. Matsumoto : Active sliding movement of actin filaments in the presence of AMP-PNP

1E1045

ミオシンVI 1分子のプロセッサ運動と回転変位の同時計測

○西川 そう¹、喜多村 和郎²、田中 裕人²、岩根 敦子³、池辺 光男⁴、柳田 敏雄^{1,2,3} (¹阪大院・基礎工、²科技振・1分子過程プロジェクト、³阪大院・生命機能、⁴Univ. of Massachusetts Medical School)

これまで、ミオシンVIが1分子でF-アクチン上をプロセッサに運動し、ネックが短いにもかかわらずステップサイズが非常に大きいことを示してきた。この結果は、レバアーアム説を基盤とする歩行モデルでは説明がつかず、ミオシンVIが滑りながら移動することを強く示唆する。F-アクチンはミオシン結合部位が5.5nmごとに螺旋に並んだ構造をもち、ミオシンVIがF-アクチンのプロトフィラメントに沿って滑りながら移動するのであれば、その過程で螺旋に沿った回転が期待される。このことを明らかにするため、我々はミオシンVIが運動するときのF-アクチンの長軸方向の変位をレーザートラップナノメトリで計測し、同時にこれまでに開発した長軸周りの回転変位計測(38年会)を行った。得られた同時計測のトレースからミオシンVIは36nm×5ステップあたり約45°の回転運動をすることがわかったが、この値はF-アクチンの螺旋のピッチよりも大きく、また単純な歩行モデルでも説明がつかない。本講演では1ステップあたりの回転角や回転方向の観測結果からミオシンVIがF-アクチン上をどのような軌道で移動するかを示し、回転を考慮したミオシンのプロセッサ運動のメカニズムについて議論したい。

S. Nishikawa, K. Kitamura, H. Tanaka, A. H. Iwane, M. Ikebe, T. Yanagida : Simultaneous Observation of Processive Movements and Rotatory Motions of a Single Myosin VI Molecule

1E1030

筋収縮の運動論に対する自律的運動系による検証実験

○山田 聡史、須田 斎 (東海大院・開発工・生物工)

筋収縮の運動論は、ミオシンの力発生に伴うアクチン繊維からの破断力による解離速度定数を用いることにより記述することが可能である。1) そこで我々は、表面自由エネルギー勾配をもったガラス基板上を水滴が自動的に運動する実験系を用いて、この運動則の一般論を確立することをめざしている。

水滴の速度をV、発生力を(1つの結合当り)fとするとその間に成立する一般式は、

$V = 2Lk_0 \sinh(fd/kT)$ (A) で与えられる。2) ここで、Lは結合部位間距離、 k_0 は発生力がゼロのときの1個の結合間の解離速度定数、dは実効的破断距離(Lのほぼ半分)、kはボルツマン定数、Tは絶対温度である。これは、発生力が自らの結合を切りつつ、前進運動をするというアイデアに基づいて導かれている。もし、fを2接触物体の滑り運動を引き起こす外力とすると、(A)式は摩擦の一般則に代わる。液滴の力測定は、ガラスマイクロニードルを用い直接の方法で行った。それにより、液滴の前方と後方での接触角の差が確かに液滴の運動の発生力の起源であることを証明した。また、液滴が滑り運動を行うときの力と速度との関係は、式(A)に非常によく適合していた。この結果は、液滴とガラス基板との界面での相互作用が流体力学的な連続体モデルに矛盾し、ある大きさ($\sim 1 \mu m$)のドメイン構造の集合体からなる固体-固体相互作用と見なすべきであることを意味している。その個々のドメインの協調的な逐次的な結合と破断の繰り返しの結果として液滴全体の滑り運動を引き起こしているという描像が最も美しい。

【文献】1) H. Suda, Langmuir, Vol.17, No.20 (2001) 6045-6047.
2) 須田 斎, トライボロジスト, 46巻4号 (2001) 324-330.

S.Yamada and H.Suda : Verification by an autonomous movement system for the dynamics of muscle contraction.

1E1100

ミオシン繊維上でのアクチン繊維滑り運動揺らぎ解析

○野田 直紀¹、今福 泰浩¹、山田 章²、太和田 勝久¹ (¹九大・理・生物、²通信総合研究所関西先端研究センター生物物性グループ)

一般的に、アクチン繊維とミオシン繊維の滑りによって生じる筋肉の収縮では、1本のアクチン繊維と相互作用している多数のミオシン分子は互いに独立に働いている、と考えられている。このように筋肉の収縮時に多数のミオシン分子が互いに独立にアクチン繊維と作用していると仮定するならば、アクチン繊維の滑り距離の拡散係数Dmと、滑り運動を起こすアクチン繊維との長さLについてDm $\propto$ 1/Lという関係が期待される(1)。これに反し以前の研究から、拡散係数Dmは滑り運動を起こすアクチン繊維の長さによらず一定、つまりDm $\propto$ 1/Lという関係にはないという結果が報告されている(2)。このことはアクチン繊維と相互作用している多数のミオシン分子間共同作用の存在を示唆している。今回、我々はIn vitro motility assayを用いミオシン分子の配向がそろった繊維上で滑り運動を起こす蛍光アクチン繊維の先端位置を決定し、その時系列データから拡散係数Dmを求めた(この実験にはムラサキインコガイ、ムラサキイガイの長い平滑筋ミオシン繊維を使った)。その結果、1) 拡散係数Dmの滑り運動を起こすアクチン繊維の長さ依存性はなく、ミオシン分子間共同作用の存在に確信を得た。さらにアクチン繊維の滑り速度が異なるミオシン繊維において、滑り速度と拡散係数Dmの関係を調べた。その結果、2) 拡散係数Dmはアクチンの滑り速度の1乗に比例しているようである。1)、2)は1本のアクチン繊維の滑り運動を起こしている複数のミオシン分子間共同作用を含めたミオシン-アクチン間相互作用の仕組みのモデルを作る際の大きな拘束条件となる。

(1)K.Sekimoto,K.Tawada(2001) Biophysical Chemistry89,95-99
(2) 高田, 山田, 今福, 太和田 日本生物物理学会第39回年会

N.Noda,Y.Imafuku,A.Yamada,K.Tawada : Fluctuation analysis of sliding movement along the myosin filament.