

Title	アクトミオンシン運動再構成モデルにおけるサブピコニュートンレベルの張力ゆらぎ
Author(s)	石島, 秋彦
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38368">https://hdl.handle.net/11094/38368</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名	いし じま あき ひこ 石 島 秋 彦
博士の専攻分野の名称	博 士 (工 学)
学 位 記 番 号	第 1 0 4 5 4 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 4 年 11 月 27 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 名	アクトミオンシン運動再構成モデルにおける サブピコニュートンレベルの張力ゆらぎ
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 石 島 秋 彦 (副査) 教 授 葛 田 道 生 教 授 村 上 富 士 夫 助 教 授 若 林 克 三

### 論 文 内 容 の 要 旨

筋収縮は、主に2種類のタンパク質、アクチンとミオシンのATPの加水分解を伴った相互作用により、引き起こされる。この相互作用のメカニズムはいまだに解明されていないが、一般的には、A. Huxleyによるメカニズムが多くの人々に受け入れられてきた。そのモデルとは、

1 ミオシンフィラメントからつきだしたミオシン頭部の構造変化がアクチンフィラメントに作用して滑り運動を引き起こす。

2 この構造変化は、ミオシン頭部におけるATP加水分解と1対1に対応している。

といったもので、非常に分かりやすい形をしているために長い間受け入れられてきた。しかし、近年のさまざまな実験結果は、このモデルに代表されるような仕組みには否定的である。

近年、分子レベルでの運動解析が可能な、in vitro運動再構成系の開発により、モータータンパク質の研究が非常に活発になってきた。我々はこの運動再構成系に、ガラスニードルを用いた張力測定技術、さらにその変位をサブナノメートル、サブピコニュートン、サブミリ秒のレベルで計測することのできる測定系を組み合わせ、モータータンパク質の挙動を直接計測することを試みた。その結果、

1 アクトミオンシン間の相互作用の挙動を直接計測することに成功し、1分子の発生張力、速度定数、力発生状態に存在する確率などのパラメーターを明らかにすることができた。さらに、

2 ミオシン分子の方向によって滑走速度、発生張力に大きな差が生じ、アクチンフィラメントの方向によって自在に力発生方向を変化させることができると考えられてきたミオシン分子にも方向性があることが示された。

そして、より生体内に近い状態の運動構成系を用いて計測した結果、

3 1分子の発生張力は1.2~3.5pnという結果が得られ、この結果は筋線維などから得られた結果と一致した。

4 非常に負荷の大きいとき(Isometric状態)にはミオシン分子はATPの化学エネルギーをいっきに放出して力学エネルギーに変換する。

5 しかし、負荷が小さいときATP1分子を加水分解する間に相互作用する距離は100nm以上になることが確認され

た。

このことは、負荷に応じて ATP の化学エネルギーを何回に分けて力学エネルギーに変換していることを意味する。ATP の化学エネルギーは熱ノイズの数十倍程度 ( $\sim 18\text{K}_\text{B}T$ ) である。アクトミオシン間の相互作用は、このエネルギーをさらに分割して力学エネルギーに変換しているのであるから、熱ノイズの入力エネルギーで作動していることになる。これは人工的な機械にはない特徴である。

つまり、生体分子モーターは熱ノイズから逃れて仕事をするのではなく、むしろそれを低レベルの入力エネルギーでコントロールして仕事に変換する巧妙なメカニズムを備えているようだ。生体分子モーターはこれまでの概念にはない新しい動作原理で働いていることが明らかになった。

## 論文審査の結果の要旨

本論文は、筋肉など生体運動を狙っているモーター蛋白質分子を直接観察し、その運動、発生する張力を高分解能で計測する装置を開発し、それをを用いてモーター蛋白質による化学的エネルギー変換メカニズムを研究したものである。

本論文は大別して次の四つの内容からなる。まず第一は、サブピコニュートンレベルの張力ゆらぎ計測システムの開発に関するものである。蛍光性のファロイジンで標識した単一アクチンフィラメントを高感度蛍光顕微鏡システムで観察しながら、その一端をマイクロニードルで捕らえ、もう一端を化学処理したガラス上に固定したミオシン分子と相互作用させる。そこで、発生した張力をマイクロニードルの変位で計測する。ニードルの変位は、電子計測により 1Å (力にして 0.01pN)、0.2 ミリ秒の分解能で計測できるようにした。この装置により、個々のミオシン分子の運動、力を高分解能で直接計測することを可能とした。

次に、数分子から数十分子のミオシン分子とアクチンで発生する張力ゆらぎを測定した。等尺状態では、大きな張力ゆらぎが観測されそのゆらぎのノイズ解析から、ミオシン 1 分子の発生する張力、ATP 分解反応と共役した張力発生 のキネティクスをはじめ決めてめるのに成功した。次に、負荷を減らしてアクチンフィラメントがミオシン分子上を滑走している時の張力ゆらぎを計測した。張力ゆらぎは等尺状態の 10 分の 1 程度にまで減少した。解析の結果、ミオシン分子は 1 ATP 分解反応中に、何回もアクチンと結合-力発生-解離サイクルを繰り返していることが分かった。これは、ミオシンとアクチンが等尺状態と滑走中で力発生モードを変えていることを示しており、非常に興味深い結果である。

三番目は、ミオシン分子を筋肉中のように規則正しく配向した系での張力、張力ゆらぎの測定およびその解析に関するものである。ミオシン分子を配向させるために、ミオシン分子をゆっくり重合させ 6 から 8  $\mu\text{m}$  のミオシンフィラメントを作製した。このミオシンフィラメントとアクチンフィラメントを順方向、逆方向で相互作用させ、張力と張力ゆらぎを測定した。そして、順方向の張力は逆方向のその十倍以上であることから、張力はアクチンフィラメント軸に対するミオシン分子の方向に大きく依存していることを明らかにした。張力ゆらぎのノイズ解析から、順方向を向いたミオシン頭部の発生する力 (2pN)、オンオフの速度定数などを決めた。

最後に、滑り運動、張力のミオシン分子の方向依存性を考慮して、ミオシンステップサイズ (1 ATP サイクル中にミオシン頭部によって引き起こされるアクチンの滑走距離) を決めている。有効に相互作用するミオシン頭部の数を張力測定から正確に見積り、それをを用いてアクチンの運動を解析しステップサイズが最大 70 nm 以上になるとを示している。これは、負荷が小さく速く運動しているときには、1 ATP サイクル中アクチン・ミオシンは何回も結合-張力発生-解離サイクルを行っていることを意味している。

筋収縮におけるエネルギー変換過程において、化学反応 (ATP 分解) と力学反応 (アクチン・ミオシン結合解離) の共役が 1 : 1 固定しているか否かの問題が、ここ数年来大きな論争となってきた。本研究は、アクチン・ミオシン分子の運動・力発生過程を直接捉える計測装置を開発し、筋収縮の分子メカニズムにおいて最も基本的なこの問題に回

答を与えたものである。国際的にも非常に高く評価されており、一連の研究まとめた本論文は博士論文として価値あるものと認める。