



Title	生体運動を担うタンパク質分子機械の超微操作
Author(s)	柳田, 敏雄
Citation	大阪大学低温センターだより. 1989, 66, p. 11-13
Version Type	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/7838">https://hdl.handle.net/11094/7838</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

# 生体運動を担うタンパク質分子機械の超微操作

基礎工学部 柳田 敏雄 (豊中4782)

筋収縮は2種類のタンパク質、ミオシンとアクチンが相互作用し、相対的に滑ることによっておこる。一般的に生体内では、様々な運動様式を可能にするためにアクチンとミオシンは複雑な集合体を形成し、その中で機能している。それゆえ、*in vitro*の系で筋収縮の素過程を研究することは非常に困難を伴う。しかし、最近、蛍光性ファロイジンで標識することにより単一アクチンフィラメントの運動を強力な蛍光顕微鏡システムで長時間連続して安定に水溶液中で直接観察する技術が開発され、単一アクチンフィラメントのミオシンに沿った滑り運動を手軽に観察することができるようになった。この運動アッセイを用いて、ミオシン分子の双頭構造は滑り運動に必須ではないこと、さらにミオシン頭部(S-1)だけでも滑り運動を引き起こすことなど、筋収縮の分子機構の研究にとって大問題であったいくつかのことがつぎつぎ明らかにされてきている。ここでは、この技術をさらに発展させ単一アクチンフィラメントの顕微操作による力測定技術を完成したのでそれについて簡単に説明する。

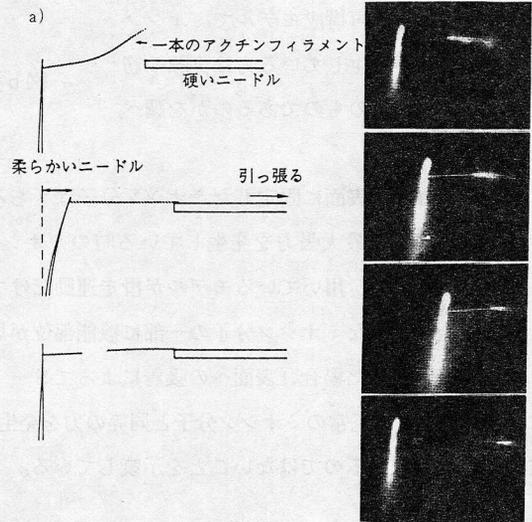
## 単一アクチンフィラメントのマイクロマニピュレーション

蛍光標識したアクチンフィラメントの端を蛍光顕微鏡下でマイクロマニピュレーターに連結したガラスのマイクロニードルを操作してつかまえる。簡単につかまえるといっても、アクチンフィラメントは太さが約7nmしかない柔らかい線維で、

それを太さが数百倍もあるニードルでつかまえようと言うのであるから無茶な話である。ごく最近まで見ることもさえないだろうと思われてきたタンパク質分子の世界ではあったが、今、直接触れてみることもできるようになったのである。

この方法を応用して、滑り力ではないがまずアクチンフィラメントの分子(モノマー)間の結合力を測定してみた。一方のニードルは非常に柔らかく、力を測定するためのものである。もう一方は硬いニードルでアクチンフィラメントを引っ張るためのものである。アクチンフィラメントの分子間の結合力は、フィラメントを硬いニードルに

よって引っ張り切れた時の柔らかいニードルのたわみを測定することによって得た(図a)。用いたニードルの弾性率(=1 $\mu$ mたわむのに必要な力)は15から40pN $\mu$ m<sup>-1</sup>(無風でもゆらゆらゆれる程柔らかい)であった。アクチンフィラメントの分子間の結合力は約400pNと求められた。このようにフィラ



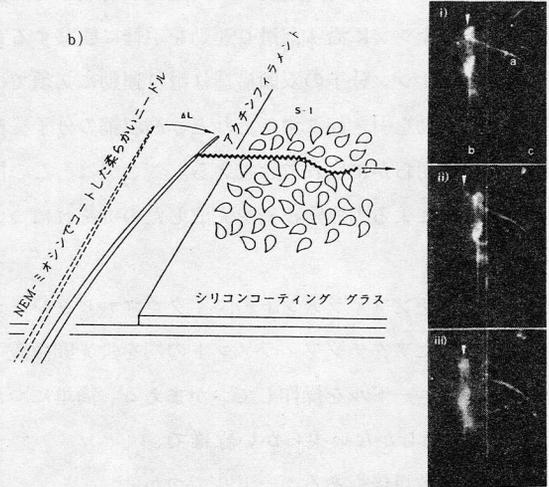
図a) アクチンフィラメントの分子(モノマー)間結合力の測定

メントアクチン中のアクチン分子間の結合力が初めて直接測定できた。これは、おそらくタンパク質集合体のサブユニット間の結合力を直接測定した初めての例ではないかと思われる。

アクチンフィラメントの強さは、筋肉を最大刺激し最大張力を発生している時に一本の細いフィラメント（F-アクチン-トロポミオシン-トロポニン複合体）にかかる平均の力（ $\sim 400\text{pN}$ ）よりわずかに大きいだけである。生体中では修復機能を備えているため、ぎりぎりの強度しか準備されていないのかもしれない。

#### アクチンフィラメント一本に生ずる滑り力の測定

次に、ガラス表面上に結合したミオシンの相互作用によって発生する力の直接測定について説明する。単一アクチンフィラメントの一方の端を柔らかいニードルに結合させる。もう一方の端は、ATP存在下でミオシンをコートしたガラス表面に触れさせる。アクチンフィラメントはガラス表面上を動きニードルを引っ張る。ニードルはたわみ、あるところで平衡に達する。発生した力はそのニードルのたわみから測定できる（図b）。この方法により、本研究で用いている運動再構成モデルでミオシン分子、S-1が発生している力は実際の筋肉と比べどの程度のものであるのかを調べた。



図b) ガラス表面に固定したミオシン分子の頭部のみで発生する力の測定

結果は、ガラス表面に固定したミオシン分子はもちろん、驚くべきことにミオシン分子の頭の部分だけでも、筋肉中で最大張力を発生している時のミオシン分子とほとんど同じ力（ $\sim 2\text{pN}$ ）を発生することを示した。今、用いているモデルが滑走運動だけでなく、力発生においても筋収縮を再現していること、そして大きなミオシン分子の一部に機能部位が局在していたことがわかった。また、S-1をガラス表面に固定した場合、表面への吸着によってS-1の動きがかなり制約をうけていると思われる。にもかかわらず、正常のミオシン分子と同等の力を発生するという事は、頭部の大きな形の変化によって力が発生しているのではないことを示唆している。

#### 1 オングストロームの分解能で“ゆらぎ”を測る

タンパク質分子からモーターユニットを再構成し直接操作するところまで来た。次はこの方法を用いて如何に有用な情報を取り出すかである。最近、我々はこの技術と1 オングストロームの分解能でガラスニードルの変位を測定する技術を組合せ、張力と滑り運動の“ゆらぎ”をサブミリ秒、1 オングストローム（ $< 0.1\text{pN}$ ）という超高分解能で測定する装置を開発した。平均値に対する“ゆらぎ”の大きさ

の比はモーターユニットの数のルートに反比例する( $\propto 1/\sqrt{n}$ )。それ故、今の測定系に含まれるミオシン頭部の数は10個程度であるから非常に詳細に“ゆらぎ”を測定できる訳である。一つのミオシン頭部で起こるATP分解の化学反応に対応した力学反応の過程を詳細に直接追跡できる道が開けたと言える。楽観的かもしれないが、生物分子エンジンの動作原理を明らかにできる日がもう手の届くところまでできているように感じる。

## 参考文献

### 筋収縮のメカニズムに関するもの

- 1) 柳田敏雄：パリティ、04, 52 (1986)
- 2) 柳田敏雄：科学（岩波）、58, 477 (1988)

### 運動再構成に関するもの

- 3) T. Yanagida et al. : *Nature*, 316, 366 (1985)
- 4) H. Honda et al. : *J. molec. Biol.*, 191, 131 (1986)
- 5) S. J. Kron & J. A. Spudich : *Proc. natn. Acad. Sci. U.S.A.*, 83, 6272 (1986)
- 6) Y. Harada et al. : *Nature*, 326, 805 (1987)
- 7) Y. Yano-Toyoshima et al. : *Nature*, 328, 536 (1987)

### 超微操作

- 8) A. Kishino & T. Yanagida : *Nature*, 334, 74 (1988)