

平成 22 年 5 月 31 日現在

研究種目：若手研究 (B)
研究期間：2008 ～ 2009
課題番号：20740238
研究課題名 (和文) 骨格筋ミオシン 1 分子から多分子への階層化に伴うシステム機能発現の解明
研究課題名 (英文) Understanding of cooperative actions between skeletal myosin molecules
研究代表者
茅 元司 (KAYA MOTOSHI)
東京大学・大学院理学系研究科・助教
研究者番号：00422098

研究成果の概要 (和文)：生体内環境に近い多分子が共存するフィラメント上における、骨格筋ミオシン 1 分子の力学特性を捉える事を試みた。ミオシン 1 分子のスティフネスを計測し、ミオシンの硬さには異方性があることを示した。力を出す方向に引っ張ると硬くなって力を出し易く、反対方向に押すと紐のように柔らかくなり、反発力を軽減する機構があることがわかった。この計測から、筋肉の中で力を出し終えたミオシンが、他の分子の力発生の妨げになることを回避するための巧みな 1 分子力学特性があることが判明した。

研究成果の概要 (英文)：I have tried to capture the "true" mechanical properties of single skeletal myosins by measuring the displacement and force generated by single myosins arranged in myosin-rod cofilaments, which is more natural environment than the typical experimental setup designed in the previous single molecule studies. It was found that the elastic properties of single myosins is non-linear. When a myosin is stretched, it becomes stiffer so that it can generate a large amount of force with a small stretching, while it becomes much softer to reduce the resistance force when it is compressed. Therefore, the non-linear elasticity may be an ingenious mechanical property to achieve muscle contractions efficiently without the molecular interference between motors.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	2,400,000	720,000	3,120,000
2009 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：数物系科学

科研費の分科・細目：物理学・生物物理 化学物理

キーワード：生物物理

1. 研究開始当初の背景

(1) 骨格筋ミオシン 1 分子の発生する力や変位の計測がこれまで行われてきたが、筋肉内の生理的な環境から逸脱した環境での計測ゆえに、本来ミオシン 1 分子が持ち得る特性を獲得しているのか疑問視されてきていた。

(2) ミオシン 1 分子の力学的特性、特にステイフネスに関しては、ミオシンを引っ張る方向による異方的な変化があるか検証されていない。この特性を知ることは、筋肉内収縮時のミオシン各分子の機能特性を知る上で極めて重要である。

2. 研究の目的

(1) 筋肉内の構造に近い、ミオシン 2-5 分子を含むフィラメント上でのミオシン 1 分子の変位・力発生を計測する。

(2) アクチンと相互作用時におけるミオシン 1 分子のステイフネスを、アクチン長軸方向に沿って伸長方向と圧縮方向において計測し、収縮中における分子機構を検証する。

3. 研究の方法

(1) 天然ミオシンと力発生部位である頭部を取り除いたロッドを 1:2 で混ぜて、重合させたミオシン・ロッドフィラメントをガラス面上に敷く。この混合比では、アクチンと相互作用できるミオシン分子数は、2-5 分子となる。アビジンを修飾した 200 nm 蛍光ビーズをレーザートラップで補足して、ビオチン化したアクチンに接触させて、ビーズをアクチンに結合させる。補足したアクチンをガラス面上にあるミオシン・ロッドフィラメントの上に持っていき相互作用させて、それに伴うビーズの変位を暗視野照明により、四分割フォトダイオードセンサに投影して、ミオシン 1 分子の変位・力を計測する。

(2) ミオシンとロッドの混合比を 1:100 にして、アクチンと相互作用できるミオシン分子数を 1 分子以下にした条件で計測する。ATP 非存在下あるいは ADP 存在下において、ビーズ 2 個を各々レーザートラップして、ビーズの間にアクチンを結合させる。アクチンの長軸方向と向きがあったミオシン・ロッドフィラメント上にアクチンを持っていき、相互作用させる。長軸方向に沿ってレーザートラップを移動させて、ミオシンを伸長・圧縮両方向に伸ばす。その際のミオシンに作用する力を、ビーズ 2 個の変位から計測し、一方アクチン上に結合させた量子ドットの変位から、ミオシン頭部の変位を見積もる。このミオシン 1 分子の力 - 変位のプロットから、伸長・圧縮方向における、ミオシン 1 分子ステイフネスを見積もる。

4. 研究成果

(1) ミオシン 1 分子の力・変位計測

① ミオシン 2-5 分子が相互作用できるフィラメントでは、アクチンと相互作用した場合、アクチンを連続的に移動することが出来、その際には 3-12 pN 程度の力を発生していることがわかった。

② ミオシンは、アクチンをステップ上に変位させていることがわかり、負荷の上昇に伴いそのステップ幅は 7 nm から 4 nm 程度まで減少することがわかった(図 1)。

③ さらに興味深いのは、相互作用できる分子数が 2 分子であっても、5 分子であっても同じ外部負荷作用時におけるステップ幅に変化がない点であった(図 1)。この結果が暗示することは、力を出し終えたミオシンによる内部抵抗が極めて小さいことであり、研究成果(2)-②で後述するステイフネスの特性で、その分子機構が明らかにされた。

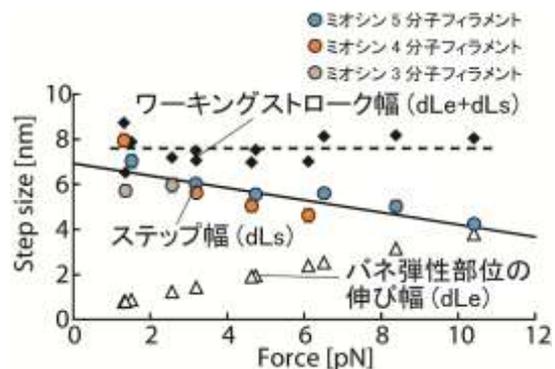


図 1 分子数が 2-5 分子が相互作用できるミオシン・ロッドフィラメントとアクチンの相互作用時におけるミオシン 1 分子の発生するステップ幅(dLs)、バネ弾性部位の伸び幅(dLe)、およびワーキングストローク幅(dLs+dLe)と外部負荷の関係。

(2) ミオシン 1 分子のステイフネス計測

① ミオシン 1 分子の力-変位関係の傾きからステイフネスを見積もると、ミオシンを伸長させる方向に依存して大きく値がことなる非線形バネ弾性の力学特性が明らかになった(図 2)。力を出す際に伸びる方向にミオシンを伸ばした場合、ステイフネスは平均 2.6 pN/nm と非常に硬いが、圧縮させる方向に伸ばすとその値は 0.02 pN/nm まで減少した。この結果から、ミオシンは力を出す際には構造が非常に硬くなり、大きな力を僅かな伸びで発生することが出来るが、力を出し終えた後、他の分子による力発生により押し縮められた場合には、反発する抗力を小さくするために、構造が非常に柔らかくなることが判明した。このミオシン 1 分子の力学計測から、ミオシン 1 分子自身には、効率的な収縮を担うための巧みな力学特性を備えていることが示唆された。

②このスティフネス計測から、研究成果(1)-②で報告した、ステップ幅が負荷に伴い減少することを説明するモデルを提唱できた。負荷が増加した場合、それに伴ってミオシン頭部に内在するバネ弾性部位が伸びるが、この伸び幅(dLe)とステップ幅(dLs)を足し合わせた変位(dLe+dLs)は、負荷に依存せずに一定でほぼ 8 nm であった(図 1)。この結果から、おそらくミオシンの構造変化による変位(ワーキングストローク幅)は約 8 nm であり、外部負荷がある場合には、その分だけバネ弾性部位が、ワーキングストローク幅をキャンセルする方向に伸びるため、外に取り出されるアクチンの移動幅(ステップ幅)は結果として、減少することが説明できた。

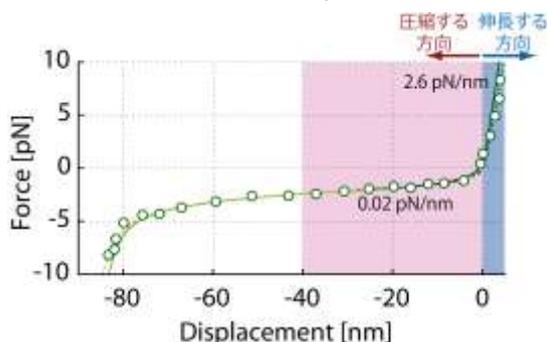


図 2 ミオシン 1 分子に作用する力と変位の関係。線の傾きはスティフネスを表わす。

5. 主な発表論文等

①雑誌論文 (計 0 件)

②学会発表 (計 7 件)

1)茅 元司 樋口 秀男 (2010) 1 分子ナノ計測による骨格筋ミオシンの力発生機構. ナノ学会第 8 回大会 岡崎カンファレンスセンター (5 月 14 日).

2)Motoshi Kaya and Hideo Higuchi (2009) Non-linear elasticity of single skeletal myosin is an essential mechanical property of muscle contraction. International Society of Biomechanics XXII Congress, Cape town, South Africa (7 月 4 日).

3)茅 元司 樋口 秀男 (2009) 量子ドットを用いた 1 分子ナノ計測によりわかってきた骨格筋ミオシンの非線形弾性と力発生へのその役割. ナノ学会第 7 回大会 東京 (5 月 10 日).

4)茅 元司 (2008) 骨格筋ミオシン 2 分子から多分子化にともなう運動の変化. タンパク質 2 分子計測ワークショップ 東京大学 (12 月 9 日).

5)茅 元司 樋口 秀男 (2008) 骨格筋ミオシンのステップサイズは負荷に伴い減少する. 第 46 回日本生物物理学会年会 福岡 (12 月 4 日).

6)Motoshi Kaya and Hideo Higuchi (2008)

Stroke size of single skeletal myosin changes with loads due to non-linear elasticity of myosin. Gordon Conference, MA USA (6 月 31 日).

7)HoaAnh Nguyen 茅 元司 昆 隆英 島 知弘 須藤 和夫 樋口 秀男 (2008) 組換え単頭ダイニン 2 分子のステップサイズは広く分散する. 生体運動合同班会議 仙台 (1 月 8 日).

③図書 該当なし

④産業財産権 該当なし

⑤その他 該当なし

6. 研究組織

(1) 茅 元司 (KAYA MOTOSHI)
東京大学・大学院理学系研究科・助教
研究者番号：00422098

(2) 研究分担者
該当なし

(3) 連携研究者
該当なし