

卒業論文

アクチン・ミオシンフィラメントの三次  
元形状を考慮した筋収縮モデルの開発

P.1~P.44 完

平成 29 年 1 月 26 日提出

指導教員 酒井 信介 教授

150205 下村拓

# 目次

|                                        |    |
|----------------------------------------|----|
| 目次.....                                | 2  |
| 第 1 章 序論 .....                         | 5  |
| 1.1 研究背景.....                          | 5  |
| 1.2 既存の研究 .....                        | 5  |
| 1.2.1 アクチン・ミオシンモデルの先行研究 .....          | 5  |
| 1.2.2 実験で得られた最新の知見 .....               | 6  |
| 1.3 研究目的.....                          | 7  |
| 1.4 本論文の構成.....                        | 8  |
| 第 2 章 筋収縮.....                         | 9  |
| 2.1 サルコメア構造.....                       | 9  |
| 2.1.1 筋肉の構造.....                       | 9  |
| 2.1.2 アクチンフィラメント.....                  | 9  |
| 2.1.3 ミオシンフィラメント.....                  | 9  |
| 2.1.4 サルコメア内の構造 .....                  | 10 |
| 第 3 章 解析手法 .....                       | 11 |
| 3.1 Cross-Bridge モデル.....              | 11 |
| 3.1.1 モデル概要.....                       | 11 |
| 3.1.2 モデルの形状 .....                     | 11 |
| 3.1.3 S2 のバネ特性.....                    | 16 |
| 3.1.4 モデルの力学的特性 .....                  | 17 |
| 3.1.5 距離の取り方と力の向き .....                | 18 |
| 3.1.6 ミオシンの熱揺らぎ .....                  | 20 |
| 3.1.7 Cross-Bridge の形成計算.....          | 21 |
| 3.2 筋収縮計算 .....                        | 23 |
| 3.2.1 微小空間における運動方程式の扱い.....            | 23 |
| 3.2.2 Newton Raphson 法.....            | 24 |
| 3.2.3 微分.....                          | 25 |
| 3.3 比較解析.....                          | 26 |
| 3.3.1 結合可能性を考えるアクチンサイトの個数についての比較 ..... | 26 |
| 3.3.2 ミオシンの初期位相の影響 .....               | 26 |
| 3.3.3 線形バネモデルと非線形バネモデルの比較.....         | 28 |
| 3.3.4 ひずみが付与された場合の結合確率の影響.....         | 28 |
| 第 4 章 解析結果 .....                       | 30 |
| 4.1 解析条件の検討.....                       | 30 |

|       |                            |    |
|-------|----------------------------|----|
| 4.1.1 | time step 幅の検討 .....       | 30 |
| 4.1.2 | 繰り返し回数の検討 .....            | 30 |
| 4.2   | 妥当性確認 .....                | 31 |
| 4.2.1 | 張力・速度関係 .....              | 31 |
| 4.2.2 | ミオシンの結合数 .....             | 32 |
| 4.3   | 結合可能なアクチンサイトの数に対する比較 ..... | 32 |
| 4.4   | ミオシンの初期位相の検討 .....         | 34 |
| 4.5   | 線形バネモデルと非線形バネモデルの比較 .....  | 36 |
| 4.6   | ひずみを付与したモデルとの比較 .....      | 37 |
| 4.6.1 | 等方性圧縮モデルとの比較 .....         | 37 |
| 4.6.2 | 繊維直角方向一軸圧縮モデルとの比較 .....    | 39 |
| 第 5 章 | 結言 .....                   | 41 |
| 第 6 章 | 謝辞 .....                   | 42 |
| 第 7 章 | 参考文献 .....                 | 43 |

## 図目次

|        |                                                       |    |
|--------|-------------------------------------------------------|----|
| 図 1-1  | : サルコメア模式図(論文[4]より転載 Biophysical Journal の許諾済み) ..... | 6  |
| 図 1-2  | : S2 の非線形性(論文[9]より転載 Science の許諾済み) .....             | 7  |
| 図 2-1  | : アクチンフィラメント模式図 .....                                 | 9  |
| 図 2-2  | : ミオシン分子 .....                                        | 10 |
| 図 2-3  | : ミオシン分子の重合 .....                                     | 10 |
| 図 2-4  | : フィラメントの配置模式図 .....                                  | 10 |
| 図 3-1  | : モデル xy 平面概念図 .....                                  | 11 |
| 図 3-2  | : S1, S2 ドメインの位置情報 .....                              | 12 |
| 図 3-3  | : S2 ドメインの非線形性(論文[9]より転載 Science の許諾済み) .....         | 16 |
| 図 3-4  | : モデル化した S2 ドメインの非線形性 .....                           | 16 |
| 図 3-5  | : ハーフサルコメアモデル概念図 .....                                | 17 |
| 図 3-6  | : 距離の取り方概念図 1 .....                                   | 19 |
| 図 3-7  | : 距離の取り方概念図 2 .....                                   | 19 |
| 図 3-8  | : ミオシンバネ変位に対する確率密度関数とその累積密度関数 .....                   | 20 |
| 図 3-9  | : ミオシンの 3 状態 .....                                    | 21 |
| 図 3-10 | : モデル xy 平面図(初期位相) .....                              | 27 |
| 図 3-11 | : モデル xy 平面図(ひずみ付与) .....                             | 29 |
| 図 4-1  | : 収縮速度の time step 幅への依存性 .....                        | 30 |

|                                                               |    |
|---------------------------------------------------------------|----|
| 図 4-2 : 張力-速度関係(論文[23]より転載 Journal of Physiology の許諾済み) ..... | 32 |
| 図 4-3 : 張力-速度関係(非線形、結合可能性 3 個) .....                          | 32 |
| 図 4-4 : 張力-速度関係(結合可能性比較) .....                                | 33 |
| 図 4-5 : 状態 3 ミオシンの S2 長さの分布(結合可能個数比較) .....                   | 33 |
| 図 4-6 : 張力-速度関係(初期位相比較) .....                                 | 34 |
| 図 4-7 : 状態 3 ミオシンの S2 長さの分布(初期位相比較) .....                     | 35 |
| 図 4-8 : アクチンフィラメントの回転 .....                                   | 35 |
| 図 4-9 : 張力-速度関係(線形-非線形比較) .....                               | 36 |
| 図 4-10 : 状態 3 ミオシンの S2 長さの分布(線形-非線形比較) .....                  | 37 |
| 図 4-11 : 張力-速度関係(等方性圧縮モデル) .....                              | 38 |
| 図 4-12 : 状態 3 ミオシンの S2 長さの分布(等方性圧縮モデル) .....                  | 38 |
| 図 4-13 張力-速度関係(一軸圧縮モデル) .....                                 | 39 |
| 図 4-14 : 状態 3 ミオシンの S2 長さの分布(一軸圧縮モデル) .....                   | 40 |

## 表目次

|                                        |    |
|----------------------------------------|----|
| 表 3-1 : ハーフサルコメアにおける結合可能部位数及びピッチ ..... | 12 |
| 表 3-2 : アクチンフィラメントに関するバネ係数 .....       | 17 |
| 表 3-3 : 用いる記号説明 .....                  | 24 |
| 表 4-1 : 繰り返し回数の検討 .....                | 31 |
| 表 4-2 : 状態 3 ミオシンの平均個数(結合可能個数比較) ..... | 33 |
| 表 4-3 : 状態 3 ミオシンの平均個数(初期位相比較) .....   | 34 |
| 表 4-4 : 状態 3 ミオシンの平均個数(線形-非線形比較) ..... | 36 |
| 表 4-5 : 状態 3 ミオシンの平均個数(等方性圧縮モデル) ..... | 38 |
| 表 4-6 : 状態 3 ミオシンの平均個数(一軸圧縮モデル) .....  | 39 |

# 第 1 章 序論

## 1.1 研究背景

人間の生命活動において、筋肉なくして成り立つものは極めて少ない。生命活動に必須である心臓の拍動、横隔膜による呼吸、また食事でも食物を口に運ぶところから内臓の動きまで、全て筋肉の運動が関わっている。筋肉の働きはミクロに見ると筋繊維の同期した収縮と弛緩によって実現されている。さらに筋繊維の収縮をミクロに見ると、筋繊維自体も繊維の集合体であり、筋繊維を構成する筋原繊維の収縮によって筋収縮は行われ、その本態は筋原繊維内のサルコメアの主要な構成要素であるアクチンフィラメントとミオシンフィラメントの間で発生する滑り運動であるとされている。

近年、顕微鏡や X 線による観察技術の大幅な進歩の結果、滑り運動の仮説を確かめる多くの知見が得られた。しかしその一方、筋繊維から取り出したサンプルに起こった現象が、筋繊維内で同様の挙動を示すかどうかは明らかになっておらず、このギャップを埋めることは大きな課題として残っている。そこで、本研究では、筋原繊維内のサルコメアの 3 次元構造を忠実に再現し、かつ実験から得られた新たな知見を取り入れたモデルの開発を行い、その挙動を確かめることにより、新しく得られた分子レベルの実験結果のサルコメア内における働き、影響を調べていきたいと考えている。また、既存のモデルでは再現できなかった実験結果の再現も目指す。

## 1.2 既存の研究

### 1.2.1 アクチン・ミオシンモデルの先行研究

筋収縮モデルは 1957 年、A. F. Huxley らによって提唱された Cross-Bridge モデルから始まり、その後、様々な研究者によって発展されてきた。Huxley らは心筋全体の収縮を代表する一つのアクチンサイトとミオシンヘッドの相互作用によるものとした Cross-Bridge モデルを開発した[1]。ミオシンのサブフラグメント 2 (S2) をバネと仮定し、Cross-Bridge 形成をバネの長さに応じた Cross-Bridge の形成と解離を定義することで収縮現象をサイゲしたモデルであり、多数の解析研究のモデルの元となっている。

単一アクチン及びミオシンのみを扱っていた Huxley らのモデルを 1979 年に Nishiyama らがハーフサルコメア内の全てのアクチンとミオシンを考慮したモデルに拡張した[2]。このモデルは個々のアクチンやミオシンが別々の挙動を示すとした上で、アクチンフィラメント上のアクチンサイトのピッチ比といった二次元構造を考慮していることが特徴である。

Pate と Cooke は化学的状態に着目したモデルを 1989 年に開発した[3]。その詳細は実験

結果に基づきパワーストロークの過程を細かく 5 状態に分類し、各状態の自由エネルギーや状態遷移確率を化学的・力学的観点から定義し、張力-速度関係に加えエネルギー効率を求めることを目指したものである。

そして 1998 年、Daniel らは Nishiyama ら Pate らのモデルを元に、アクチンフィラメントとミオシンフィラメントが弾性体であるという事実をモデル化した[4]。それ以前はハーフサルコメア全体のモデルを作成してもそれぞれのアクチン、ミオシンがその他の Cross-Bridge 形成に影響を受けず、確率的な結合解離を行っていたが、弾性体の導入により、各アクチンサイト間・ミオシンヘッド間の距離が一定ではなくなり、全体の力の釣合いを満たすように定められるモデルとなった(図 1-1)。その結果、1つの Cross-Bridge の形成がすべてのアクチン、ミオシンの相対位置を変え、他の Cross-Bridge を形成に影響していくモデルを考えることが可能になった。

このように実験技術の発展、コンピュータの処理能力の発展と共に、アクチンとミオシンのモデルも発展を続けてきたが、未だに簡単のために 1 次元モデルが主流である。以下 1.2.2 節に示すミクロな実験で得られた最新の知見が収縮現象に及ぼす影響を評価するためには、3 次元構造を考慮したモデルは開発が不可欠である。

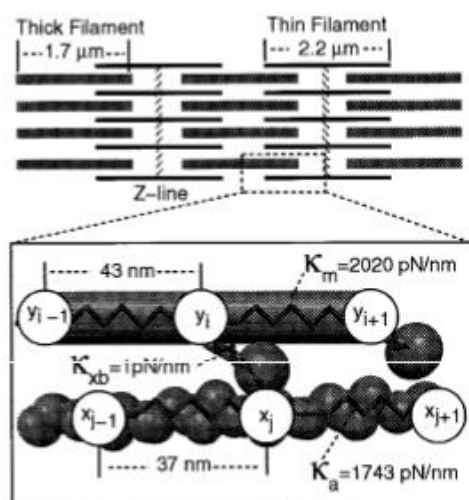


図 1-1 : サルコメア模式図(論文[4]より転載 Biophysical Journal の許諾済み)

### 1.2.2 実験で得られた最新の知見

この項で紹介する最新の知見は大きく分けて 3 つである。

1. アクチンフィラメントとミオシンフィラメントの詳細な構造
2. ミオシンの駆動力によるアクチンフィラメントの回転運動
3. ミオシンのサブフラグメント 2(S2)の非線形性

1 つ目の知見について、アクチンフィラメントとミオシンフィラメントの形状は、最新の X 線結晶構造解析やクライオ電子顕微鏡による実験に加え、MD などによるシミュレーション技術も向上した結果、詳細な構造が把握できるようになった。その情報より、既存のモデルより、実際のものに忠実なモデルを作ることができると考えられる。構造について注目すべき点として、ミオシンサブフラグメント 1(S1)の構造変化が、繊維方向には各状態で決まった位置を取るのに対し、回転方向には複数の位置が観察されており、自由度があるのではないかと示唆されている[5]。

2 つ目は、Vilfan らの研究結果として、アクチンフィラメントが回転しながら滑り運動をすることが確認されている[6], [7]。また、Volkmann らによると、ミオシンレバーアームの ADP 結合状態から Rigor 状態への変形過程は、アクチンフィラメント線維方向に対して斜め方向に起こっており[8]、Power stroke がトルク成分を持つことが示唆されている。

3 つ目の実験事実は、ミオシンのサブフラグメント 2(S2)が非線形性をもつバネとしての役割を担っているということである[9]。図 1-2 に示すように、ミオシンの正方向への変位に対して高い剛性を持ち、負方向に対して低い剛性を持つことが解明された。

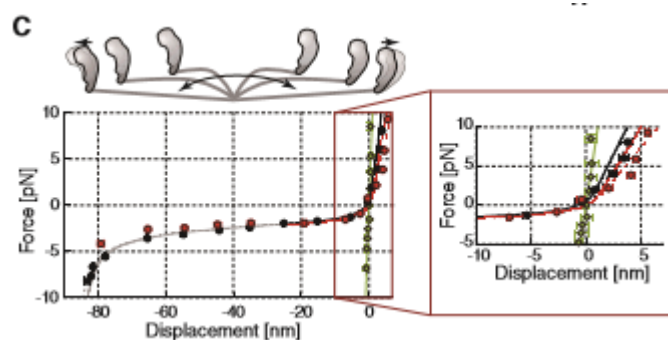


図 1-2 : S2 の非線形性(論文[9]より転載 Science の許諾済み)

## 1.3 研究目的

1.2.2 で述べた 3 つの最新の知見を取り入れた 3 次元モデルを作成し、筋収縮メカニズムの考察と、従来のモデルでは再現できていない実験事実の再現に取り組む。最新の治験と対応し、モデルの新規性として、以下のものが挙げられる。

1. モデルの 3 次元化
2. アクチンフィラメントの回転運動の考慮
3. S2 の非線形特性の適用

アクチンフィラメントの回転運動が示唆されているため、回転を考慮するためにモデルの 3 次元化は不可欠であるが、その他にも 2 次元モデルでは表現できない現象が存在する。既存の 2 次元モデルではアクチンフィラメントとミオシンフィラメントの両中心軸を含む

平面内にあるアクチンサイト、およびミオシンのみを扱っているため、1つのミオシンに対して **Cross-Bridge** を形成する可能性のあるアクチンサイトは1つであった。しかし、実際の3次元構造では隣接するアクチンサイト間の距離が小さいことから、ミオシンが結合する可能性のあるアクチンサイトは1つではないことが考えられる。さらにアクチンフィラメントが回転運動を行うことを加味すると、ミオシンと最も近いアクチンサイトとは別の、近くにいる複数のアクチンサイトが滑り運動に対して影響をおよぼす可能性が高い。

S2の非線形性については、非線形バネ特性はハーフサルコメアの滑り運動方向の力が大きく働くことが予想されるが、正方向への剛性が高い分、進行方向への力を発生させるために有利な位置で **Cross-Bridge** を形成することが難しくなるというデメリットも考えられる。これらのことについて観察したい。

これらの情報を取り入れたモデルの開発を行い、そのモデルが既存の考え方と比べ、実験事実を再現しているかを確認するために、以下のものを検証する。

- 3.3.1 結合可能性を考えるアクチンサイトの個数についての比較
- 3.3.2 ミオシンの初期位相の影響
- 3.3.3 線形バネモデルと非線形バネモデルの比較
- 3.3.4 ひずみが付与された場合の結合確率の影響

上記の条件に対し、負荷-短縮速度関係、エネルギー効率、などの指標を計算し比較することによって、新たな概念の影響を調べ、新しく発見された実験事実は実際の筋収縮において、どのような意義を持つかを考察する。また、モデルの3次元化に伴い

## 1.4 本論文の構成

以下に本論文の構成を述べる。

第2章では筋収縮の原理とその構成要素について説明する。

第3章ではモデルの概要及び計算方法について説明する。

第4章では解析結果についての説明とその考察を行う。

第5章では結言を述べる。

## 第 2 章 筋収縮

### 2.1 サルコメア構造

#### 2.1.1 筋肉の構造

筋細胞は長さ約 $100\mu\text{m}$ 、直径約 $15\mu\text{m}$ の柱状の細胞である。複数の筋原繊維を持っており、これが収縮することで細胞全体が収縮する。

筋原繊維は直径約 $1\mu\text{m}$ の柱状の構造をしており、筋細胞内を長軸方向に束になって配置されている。筋細胞の総体積の 40~50% を占めており、細胞内ではその隙間を埋めるようにミトコンドリアが配置されており、収縮のエネルギーとなる ATP の生産を担っている。

サルコメアは筋原繊維に存在する約 $2\mu\text{m}$ の収縮の単位である。筋原繊維を顕微鏡で観察した時に金現世には繰り返し構造の明暗の横紋が観察できる。明るい部分の真ん中に細い線状の暗い部分が確認できる。これが Z 帯と呼ばれ、サルコメアとはこの Z 帯から Z 帯の間の区間である。

さらに顕微鏡を高倍率にして観察すると、サルコメア内には細いフィラメントと太いフィラメントが規則正しく配列している。2 本のフィラメントが相互作用を行い、力を発生させていると考えられている。

#### 2.1.2 アクチンフィラメント

2 本のフィラメントのうち、細いフィラメントはアクチンフィラメントと呼ばれる。G アクチンという分子量約 4200 の球形の蛋白質が、一周 13 個、13 週の螺旋構造を作り、その螺旋が 2 つ重なって、計 338 個の G アクチンによって右向き二重螺旋構造を形成している (図 2-1)。G アクチンにはそれぞれ Cross-Bridge 形成可能部位があり、それをアクチンサイトと呼ぶ。アクチンフィラメントは弾性を有していることが知られている[10], [11]。弾性係数については 3.1.4 で説明する。

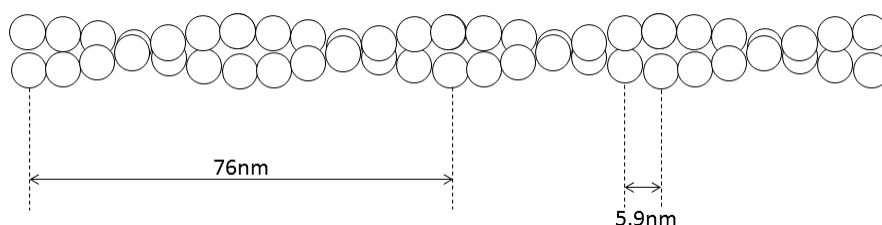


図 2-1 : アクチンフィラメント模式図

#### 2.1.3 ミオシンフィラメント

2 本のフィラメントのうち、太いフィラメントはミオシンフィラメントと呼ばれる。ミオ

シン分子は図 2-2 に示す構造を持っている。サブフラグメント 1(S1)はアクチンサイトと結合し **Cross-Bridge** を形成する部位となり、図 2-2 において右側に首を振るような構造変化を起こすことで力を発生させると考えられている。サブフラグメント 2(S2)はミオシンフィラメントから外側に突き出ており、**Cross-Bridge** 形成後、非線形バネのような働きをする。S1 と S2 をつなぐ部分はアクチンフィラメントの長軸方向と垂直な面において自由度を持つことが示唆されている[5]。S2 より図 2-2 で右側の LMN はミオシンフィラメントを形成する際、重合する部分となる(図 2-3)。ミオシンフィラメントはこれらのミオシン分子が、1 螺旋あたり、一周 9 個で 6 週の計 54 個重合して形成され、さらに 3 つ重なって三重螺旋を作っている。

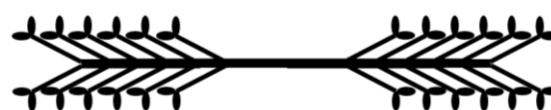
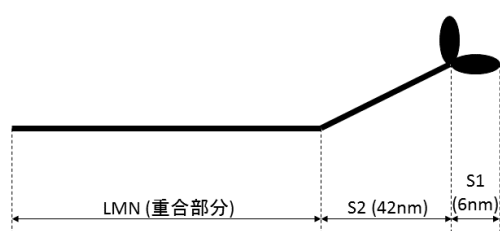


図 2-3 : ミオシン分子の重合

図 2-2 : ミオシン分子

#### 2.1.4 サルコメア内の構造

サルコメアの長軸方向と垂直に交わる断面図が図 2-4 である。図 2-4 を見るとわかるように、アクチンフィラメントは正六角形の頂点に配置されており、その中心にミオシンフィラメントが配置されている。

長軸方向は図 1-1 のように、サルコメアの中心にミオシンフィラメントがあり、Z 帯をまたぐようにアクチンフィラメントが位置している。本研究では、対称性から点線四角内のサルコメアの半分(ハーフサルコメア)をモデル化する。

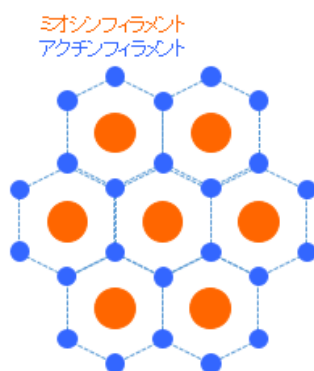


図 2-4 : フィラメントの配置模式図

## 第 3 章 解析手法

### 3.1 Cross-Bridge モデル

#### 3.1.1 モデル概要

本研究ではサルコメア内のアクチンフィラメント及びミオシンフィラメントの対称性より、力を受ける代表として一本のアクチンフィラメントに着目し、ハーフサルコメア内の一本のアクチンフィラメントとそれを囲う三本のアクチンフィラメントのモデルを作成する。S1 ドメインとアクチンサイトによる Cross-Bridge 形成は結合状態に 3 状態を仮定し、確率的な結合解離を行うとして、既存の Cross-Bridge モデル[1]–[4]に従い、MonteCarlo 法を用いて計算する。アクチンフィラメントの移動距離は、平衡方程式を Newton-Raphson 法を用いて解くことにより求める。

#### 3.1.2 モデルの形状

2.1 節で説明した、サルコメア内の構造をアクチン、ミオシンについて螺旋構造やその周期について最新の知見を用い、実際のものを忠実に再現する。サルコメアの長軸方向を  $z$  軸とした  $xyz$  空間を用いて説明する。 $xy$  平面におけるアクチンフィラメントとミオシンフィラメントの配置は、下図のように、正三角形の頂点と三本のミオシンフィラメントの中心、正三角形の重心とアクチンフィラメントの中心が一致するようにモデル化する。正三角形の重心、つまり、アクチンフィラメントの中心を  $x=y=0$  の点とする。

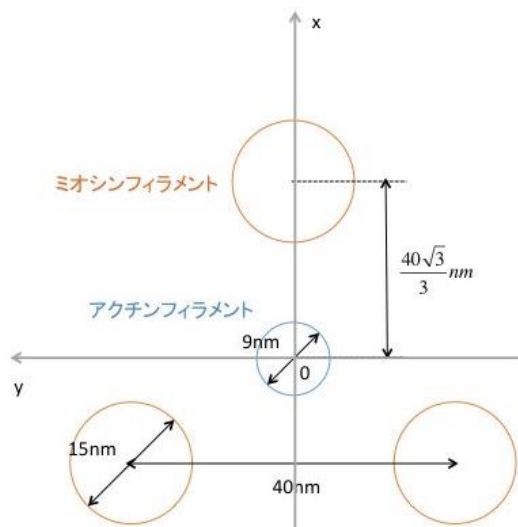


図 3-1 : モデル  $xy$  平面概念図

|                     | アクチン   | ミオシン     |
|---------------------|--------|----------|
| フィラメント当たりの螺旋数       | 2      | 3        |
| 螺旋の周期数              | 13     | 6        |
| 1 周期当たりの結合可能部位数     | 13     | 9        |
| 螺旋当たりの結合可能部位合計数     | 169    | 54       |
| フィラメント当たりの結合可能部位合計数 | 338    | 162      |
| 結合可能部位の長軸方向間隔       | 5.9 nm | 42.9 nm  |
| 1 周期の長軸方向長さ         | 76 nm  | 128.7 nm |

$$\begin{cases} x = 4.5 \cos\left(\frac{2\pi}{13}n\right) \\ y = 4.5 \sin\left(\frac{2\pi}{13}n\right) \\ z = \frac{74}{13}n \end{cases} \quad (3.1)$$

$$\begin{cases} x = 4.5 \cos \left( \frac{2\pi}{13}n + \pi \right) \\ y = 4.5 \sin \left( \frac{2\pi}{13}n + \pi \right) \\ z = \frac{74}{13}n \end{cases} \quad (3.2)$$

ミオシンフィラメント

90°

5°

R

S1

S2

$l_0 = 42\text{nm}$

6nm

F

12

図 3-1 上にあるミオシンフィラメントの S2 の根元の座標は

$$\begin{cases} x = 7.5 \cos \left( \frac{2\pi}{9}m + \pi \right) + 40\frac{\sqrt{3}}{3} \\ y = 7.5 \sin \left( \frac{2\pi}{9}m + \pi \right) \\ z = \frac{128.7}{9}m \end{cases} \quad (3.3)$$

$$\begin{cases} x = 7.5 \cos \left( \frac{2\pi}{9}m + \pi - \frac{2}{3}\pi \right) + 40\frac{\sqrt{3}}{3} \\ y = 7.5 \sin \left( \frac{2\pi}{9}m + \pi - \frac{2}{3}\pi \right) \\ z = \frac{128.7}{9}m \end{cases} \quad (3.4)$$

$$\begin{cases} x = 7.5 \cos \left( \frac{2\pi}{9}m + \pi + \frac{2}{3}\pi \right) + 40\frac{\sqrt{3}}{3} \\ y = 7.5 \sin \left( \frac{2\pi}{9}m + \pi + \frac{2}{3}\pi \right) \\ z = \frac{128.7}{9}m \end{cases} \quad (3.5)$$

図 3-1 左下にあるミオシンフィラメントの S2 の根元の座標は

$$\begin{cases} x = 7.5 \cos \left( \frac{2\pi}{9}m - \frac{\pi}{3} \right) - 20\frac{\sqrt{3}}{3} \\ y = 7.5 \sin \left( \frac{2\pi}{9}m - \frac{\pi}{3} \right) + 20 \\ z = \frac{128.7}{9}m \end{cases} \quad (3.6)$$

$$\begin{cases} x = 7.5 \cos \left( \frac{2\pi}{9}m - \frac{\pi}{3} - \frac{2}{3}\pi \right) - 20\frac{\sqrt{3}}{3} \\ y = 7.5 \sin \left( \frac{2\pi}{9}m - \frac{\pi}{3} - \frac{2}{3}\pi \right) + 20 \\ z = \frac{128.7}{9}m \end{cases} \quad (3.7)$$

$$\begin{cases} x = 7.5 \cos \left( \frac{2\pi}{9}m - \frac{\pi}{3} + \frac{2}{3}\pi \right) - 20\frac{\sqrt{3}}{3} \\ y = 7.5 \sin \left( \frac{2\pi}{9}m - \frac{\pi}{3} + \frac{2}{3}\pi \right) + 20 \\ z = \frac{128.7}{9}m \end{cases} \quad (3.8)$$

図 3-1 右下にあるミオシンフィラメントの S2 の根元の座標は

$$\begin{cases} x = 7.5 \cos \left( \frac{2\pi}{9}m + \frac{\pi}{3} \right) - 20 \frac{\sqrt{3}}{3} \\ y = 7.5 \sin \left( \frac{2\pi}{9}m + \frac{\pi}{3} \right) - 20 \\ z = \frac{128.7}{9}m \end{cases} \quad (3.9)$$

$$\begin{cases} x = 7.5 \cos \left( \frac{2\pi}{9}m + \frac{\pi}{3} - \frac{2}{3}\pi \right) - 20 \frac{\sqrt{3}}{3} \\ y = 7.5 \sin \left( \frac{2\pi}{9}m + \frac{\pi}{3} - \frac{2}{3}\pi \right) - 20 \\ z = \frac{128.7}{9}m \end{cases} \quad (3.10)$$

$$\begin{cases} x = 7.5 \cos \left( \frac{2\pi}{9}m + \frac{\pi}{3} + \frac{2}{3}\pi \right) - 20 \frac{\sqrt{3}}{3} \\ y = 7.5 \sin \left( \frac{2\pi}{9}m + \frac{\pi}{3} + \frac{2}{3}\pi \right) - 20 \\ z = \frac{128.7}{9}m \end{cases} \quad (3.11)$$

図 3-1 上にあるミオシンフィラメントの S1,S2 のつなぎ目の座標は

$$\begin{cases} x = (7.5 + 42 \cos \phi) \cos \left( \frac{2\pi}{9}m + \pi \right) + 40 \frac{\sqrt{3}}{3} \\ y = (7.5 + 42 \cos \phi) \sin \left( \frac{2\pi}{9}m + \pi \right) \\ z = \frac{128.7}{9}m + 42 \sin \phi \end{cases} \quad (3.12)$$

$$\begin{cases} x = (7.5 + 42 \cos \phi) \cos \left( \frac{2\pi}{9}m + \pi - \frac{2}{3}\pi \right) + 40 \frac{\sqrt{3}}{3} \\ y = (7.5 + 42 \cos \phi) \sin \left( \frac{2\pi}{9}m + \pi - \frac{2}{3}\pi \right) \\ z = \frac{128.7}{9}m + 42 \sin \phi \end{cases} \quad (3.13)$$

$$\begin{cases} x = (7.5 + 42 \cos \phi) \cos \left( \frac{2\pi}{9}m + \pi + \frac{2}{3}\pi \right) + 40 \frac{\sqrt{3}}{3} \\ y = (7.5 + 42 \cos \phi) \sin \left( \frac{2\pi}{9}m + \pi + \frac{2}{3}\pi \right) \\ z = \frac{128.7}{9}m + 42 \sin \phi \end{cases} \quad (3.14)$$

図 3-1 左下にあるミオシンフィラメントの S1,S2 のつなぎ目の座標は

$$\begin{cases} x = (7.5 + 42 \cos \phi) \cos \left( \frac{2\pi}{9}m - \frac{\pi}{3} \right) - 20 \frac{\sqrt{3}}{3} \\ y = (7.5 + 42 \cos \phi) \sin \left( \frac{2\pi}{9}m - \frac{\pi}{3} \right) + 20 \\ z = \frac{128.7}{9}m + 42 \sin \phi \end{cases} \quad (3.15)$$

$$\begin{cases} x = (7.5 + 42 \cos \phi) \cos \left( \frac{2\pi}{9}m - \frac{\pi}{3} - \frac{2}{3}\pi \right) + 40 \frac{\sqrt{3}}{3} \\ y = (7.5 + 42 \cos \phi) \sin \left( \frac{2\pi}{9}m - \frac{\pi}{3} - \frac{2}{3}\pi \right) + 20 \\ z = \frac{128.7}{9}m + 42 \sin \phi \end{cases} \quad (3.16)$$

$$\begin{cases} x = (7.5 + 42 \cos \phi) \cos \left( \frac{2\pi}{9}m - \frac{\pi}{3} + \frac{2}{3}\pi \right) + 40 \frac{\sqrt{3}}{3} \\ y = (7.5 + 42 \cos \phi) \sin \left( \frac{2\pi}{9}m - \frac{\pi}{3} + \frac{2}{3}\pi \right) + 20 \\ z = \frac{128.7}{9}m + 42 \sin \phi \end{cases} \quad (3.17)$$

図 3-1 右下にあるミオシンフィラメントの S1,S2 のつなぎ目の座標は

$$\begin{cases} x = (7.5 + 42 \cos \phi) \cos \left( \frac{2\pi}{9}m + \frac{\pi}{3} \right) - 20 \frac{\sqrt{3}}{3} \\ y = (7.5 + 42 \cos \phi) \sin \left( \frac{2\pi}{9}m + \frac{\pi}{3} \right) - 20 \\ z = \frac{128.7}{9}m + 42 \sin \phi \end{cases} \quad (3.18)$$

$$\begin{cases} x = (7.5 + 42 \cos \phi) \cos \left( \frac{2\pi}{9}m + \frac{\pi}{3} - \frac{2}{3}\pi \right) + 40 \frac{\sqrt{3}}{3} \\ y = (7.5 + 42 \cos \phi) \sin \left( \frac{2\pi}{9}m + \frac{\pi}{3} - \frac{2}{3}\pi \right) - 20 \\ z = \frac{128.7}{9}m + 42 \sin \phi \end{cases} \quad (3.19)$$

$$\begin{cases} x = (7.5 + 42 \cos \phi) \cos \left( \frac{2\pi}{9}m + \frac{\pi}{3} + \frac{2}{3}\pi \right) + 40 \frac{\sqrt{3}}{3} \\ y = (7.5 + 42 \cos \phi) \sin \left( \frac{2\pi}{9}m + \frac{\pi}{3} + \frac{2}{3}\pi \right) - 20 \\ z = \frac{128.7}{9}m + 42 \sin \phi \end{cases} \quad (3.20)$$

### 3.1.3 S2 のバネ特性

S2 ドメインはミオシンにおけるバネ部と考えられており、既存のモデルではすべて線形バネとして近似されている。しかし、最新の実験によって、S2 は正の変位に対し、高い剛性を持ち、負の変位に対し低い剛性を持つことがわかっている[9]。そこで本研究では Washio らの研究[12]に従い、以下の式のようにバネ特性を定めた。

$$F(x) = \begin{cases} k_1 x & (0 \leq x) \\ \frac{k_1 x_o}{\log\left(\frac{k_2}{k_1}\right)} \left(1 - \left(\frac{k_2}{k_1}\right)^{-\frac{x}{x_o}}\right) & (-x_o \leq x < 0) \\ k_2(x + x_o) + \frac{k_1 x_o \left(1 - \frac{k_2}{k_1}\right)}{\log\left(\frac{k_2}{k_1}\right)} & (x < -x_o) \end{cases} \quad (3.21)$$

$$k_1 = 2000 \left[\frac{nN}{nm}\right] \quad k_2 = 100 \left[\frac{nN}{nm}\right] \quad x_o = 4.35[nm]$$

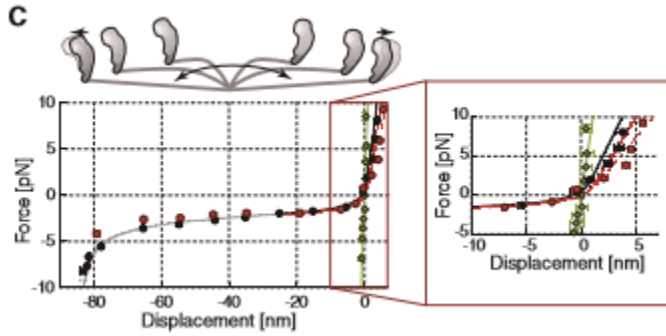


図 3-3 : S2 ドメインの非線形性(論文[9]より転載  
Science の許諾済み)

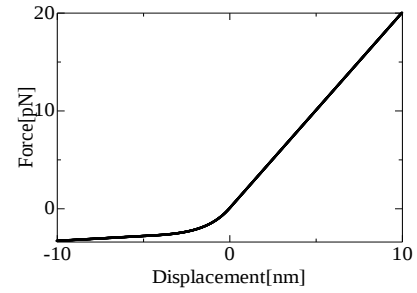


図 3-4 : モデル化した S2 ドメインの非線形性

また、今回のモデルは 3 次元モデルのため、S2 の曲げ方向に対するバネ係数も定義する必要がある。これは Adamovic らの MD 研究に従い、 $k_r = 0.01[\text{pNnm}]$  の線形バネとする[13]。

### 3.1.4 モデルの力学的特性

概念モデルを図 3-5 に示す。基本的には Daniel らのモデル化[4]に基づいている。ミオシンフィラメントは他の要素に比べ剛性が高く、その剛性の Cross-Bridge 形成への影響が小さいことから剛体であると仮定し、ミオシンフィラメントから飛び出している部分である S2 は前節で示した非線形バネとする。アクチンフィラメントは、二重螺旋において同じ螺旋上の隣り合ったアクチン分子同士の結合と比べ、異なる螺旋上の最も近いアクチン分子の結合の方が強い[14]、異なる螺旋上にある  $z$  方向位置が等しい 2 つのアクチンサイトを対とし、1 つの剛体と見ることとする。2 つのアクチンサイト対の間を  $z$  方向の線形バネ及び  $z$  方向モーメントに対する線形の捻りバネでつないだものをアクチンフィラメントとしてモデル化する。ミオシンフィラメントが剛体であり、その座標が初期座標から不変のため、アクチンフィラメントの移動により筋収縮を表現する。

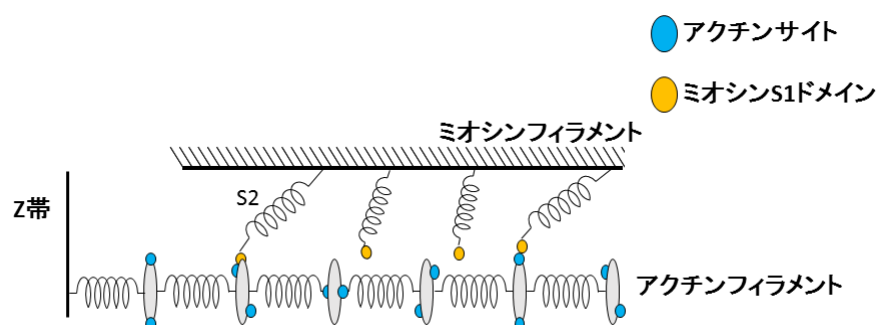


図 3-5 : ハーフサルコメアモデル概念図

また、モデル化したバネのバネ係数は以下の表にまとめた。

表 3-2 : アクチンフィラメントに関するバネ係数

|                          | バネ係数                                              | 参考文献      |
|--------------------------|---------------------------------------------------|-----------|
| アクチンサイト間のバネ係数            | $11329.5[\frac{\text{pN}}{\text{nm}}]$            | [4], [11] |
| アクチンサイト間のねじりバネ係数         | $195000[\text{pN} \cdot \text{nm}^2]$             | [15]      |
| アクチンフィラメントと Z 帯間のバネ係数    | $2.5 \times 10^{-4}[\frac{\text{pN}}{\text{nm}}]$ | [16]      |
| アクチンフィラメントと Z 帯間のねじりバネ係数 | $500[\text{pN} \cdot \text{nm}^2]$                | [15]      |

### 3.1.5 距離の取り方と力の向き

図 3-6 に距離  $l$  と  $r$  の取り方を記す。 $l$  はミオシン S2 の伸び、 $r$  は S2 の曲げ方向の変位である。S1 は回転自由としているため、プログラミング上ではモデル化せず、計算上で図に示す円弧から 6nm を引くことで表現している。説明に際し、あるミオシンフィラメントから S2 が飛び出している根元を  $R$ 、S1 と S2 の結合部を  $J$ 、S1 の先端でアクチンとの結合部位を  $E$ 、アクチンサイトを  $A$  とすると、ミオシンフィラメントが剛体であると仮定しているため、 $R, J, E$  の初期座標は一定である。

S1 の先端は  $J$  の初期座標を中心に伸び方向と曲げ方向に熱ゆらぎをしていると仮定する。S2 の長軸方向、つまり  $l$  方向においては 3.1.3 で記述したバネ特性に従った非線形バネとし、曲げ方向( $r$  方向)は線形バネとして扱う。Cross-Bridge 形成の反応速度はここで定義したミオシンとアクチンの距離  $l, r$  に依存すると過程する。詳しくは 3.1.7 で参照されたい。

また、力の計算にも上記の距離を使用する。力が発生する時には、S1 の先端とアクチンサイトが結合している状態のため、S1 の先端とアクチンサイトの座標、すなわち  $E'$  と  $A$  の座標が一致している。それらを実現するためにバネ部である S2 が伸び縮みするので、 $J$  も  $J'$  へと移動する。この状態を図 3-7 に示す。図 3-7 を表現した上で  $\vec{l}$  を得るために、図 3-6 において、 $\vec{J'E}, \vec{AR}$  を計算する。 $\vec{J'R} = \vec{J'E} + \vec{AR}$  を求め、 $\vec{l} = \vec{J'R} - \vec{J'R} \times \frac{37}{|\vec{J'R}|}$  とした。 $\vec{l}$  を力の方向とし、このベクトル  $\vec{l}$  を用いて、力の計算を行った。力の計算について詳しくは 3.2.2 を参照されたい。

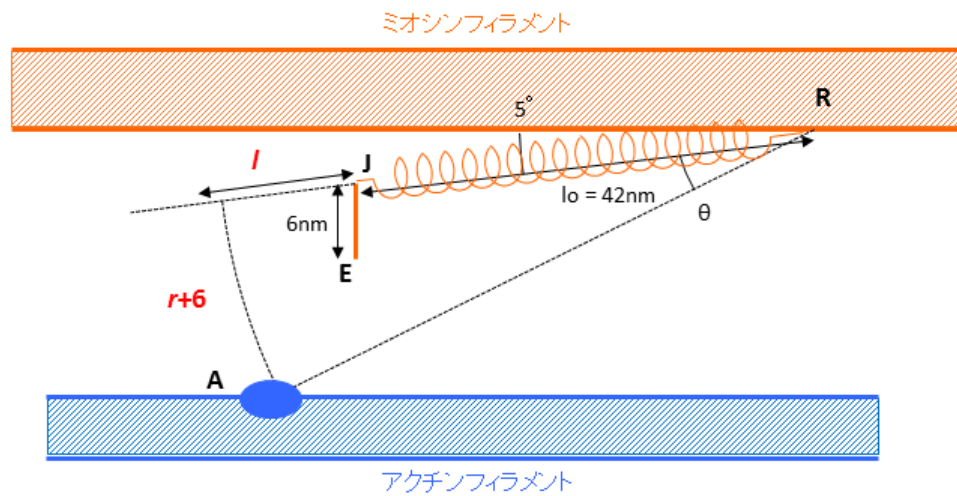


図 3-6 : 距離の取り方概念図 1

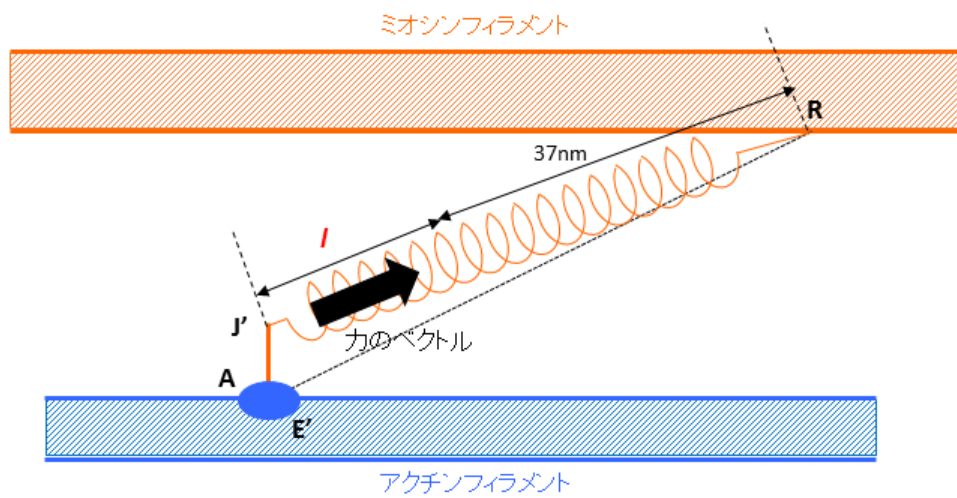


図 3-7 : 距離の取り方概念図 2

### 3.1.6 ミオシンの熱揺らぎ

ミオシン分子は微小粒子のため、ブラウン運動を行う。ミオシンの熱運動は S2 ドメインがバネの働きをするため、バネ振動子のポテンシャル $U(l, r)$ に従った熱運動を考えると考えられる。3.1.3 に示したバネ特性を用いて、 $U(l, r)$ を以下に記す。

$$U(l, r) = \begin{cases} \frac{1}{2}k_1 l^2 + \frac{1}{2}k_r r^2 & (0 \leq l) \\ \frac{k_1 x_o}{\log\left(\frac{k_2}{k_1}\right)} \left( l + \frac{x_o}{\log\left(\frac{k_2}{k_1}\right)} \left( \left( \frac{k_2}{k_1} \right)^{-\frac{l}{x_o}} - 1 \right) \right) + \frac{1}{2}k_r r^2 & (-x_o \leq l < 0) \\ \frac{1}{2}k_2(l^2 - x_o^2 + 2l + 2x_o) - \frac{k_1 x_o}{\log\left(\frac{k_2}{k_1}\right)} \left( x_o + \left( \frac{k_2}{k_1} - 1 \right) \left( x + x_o + \frac{k_1 x_o}{\log\left(\frac{k_2}{k_1}\right)} \right) \right) + \frac{1}{2}k_r r^2 & (l < -x_o) \end{cases} \quad (3.22)$$

ボルツマンの確率密度関数 (Probability Density Function)の式より、 $U(l, r)$ を用いて、 $PDF(l, r)$ を求めることができる。ただし、上記 $U(l, r)$ の単位は[pNnm]であるため、単位換算を行い、今後は  $U(l, r)[N m] = U(l, r)[pN nm] \times 10^{-21}$  として、 $U(l, r)$ を扱うこととする。また、 $k_b$ はボルツマン定数、 $T$ は絶対温度として、 $PDF(l, r)$ を以下に記す。

$$D(l, r) = \iint_{-\infty}^{\infty} U(l, r) dl dr \quad (3.23)$$

$$PDF(l, r) = \frac{\exp\left(-\frac{U(l, r)}{k_b T}\right)}{D(l, r)} \quad (3.24)$$

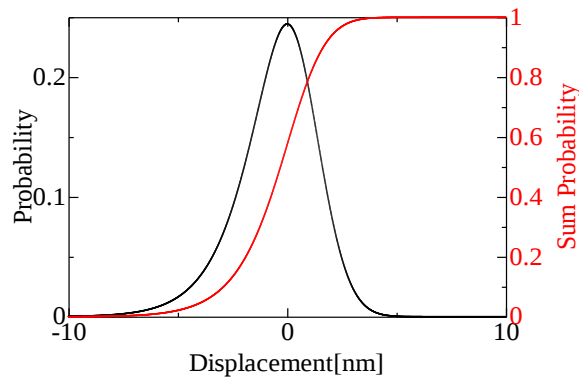


図 3-8 : ミオシンバネ変位に対する確率密度関数とその累積密度関数

### 3.1.7 Cross-Bridge の形成計算

ミオシンとアクチンのパワーストロークのサイクルは Lymn と Taylor によって 1971 年に解明された[17]。その研究によると、パワーストロークは 3 状態に分けられるとされている。その後も研究は進み、パワーストロークの過程は細かく分けると 5 つほどの過程に分けられるが、パワーストロークにおける状態を最も少ない数で代表すると Lymn と Taylor が提唱したままの 3 つの状態を表されることが研究結果として示されている[18]。本研究では Daniel らのモデルに従い、パワーストロークの過程を簡単のため 3 状態を仮定している[4]。状態 1 は未結合(解離状態)で、状態 2 は弱結合、状態 3 は強結合とする。弱結合は Cross-Bridge は形成されているが、頭部の構造変化は起きていない状態であり、ミオシンが力を発生させていない状態である。図 3-9 に状態遷移概念図を示す。

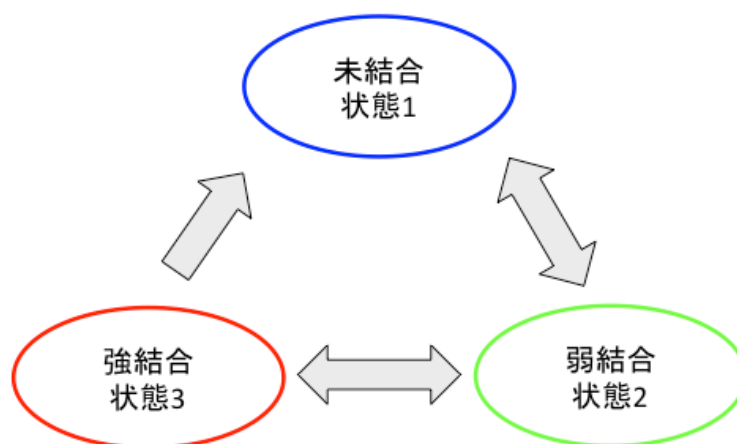


図 3-9 : ミオシンの 3 状態

ミオシンの状態遷移は現実の筋細胞内でも確率的に行われていると考えられているので、これを再現するために確率論に従った状態遷移計算を行う必要がある。そこで、本研究では MonteCarlo 法を使用する。分子レベルの現象をモデリングする際 MonteCarlo 法が有効であることは証明されている[19], [20]。

状態 1 から状態 2 への遷移、つまり Cross-Bridge 形成の反応速度はミオシンの確率密度関数  $PDF(l, r)$  に比例すると考える。ここで単位時間あたりに状態  $i$  から  $j$  に遷移する確率を  $r_{ij}$  とすると、その他も状態遷移確率は Hunt らによって定式化されており[21]、本研究ではその式に従う。それらの式を以下に示す。

$$r_{12} = 1.5 \times 10^5 \text{PDF}(l, r) \quad (3.25)$$

$$r_{23} = 1000 + \frac{5000}{\exp(l+7)} \quad (3.26)$$

$$r_{31} = \begin{cases} 6(l+7), & (l+7) > 0 \\ -100(l+7), & (l+7) < 0 \end{cases} \quad (3.27)$$

また逆反応の状態繊維確率は3状態の自由エネルギーに従った式を用いて、表される。3状態の自由エネルギーはPateらの研究[3]にのっとり、以下のように表す。ただし $[P_i]$ はリン酸濃度とする。

$$G_1 = 0 \quad (3.28)$$

$$G_2 = -4.3 + \frac{U(l, r)}{k_b T} \quad (3.29)$$

$$G_3 = -4.3 + \frac{U((l+7), r)}{k_b T} + \log(1.89 \times 10^{-4} [P_i]) \quad (3.30)$$

上記の自由エネルギーを用いて、逆反応の状態遷移確率は

$$r_{21} = r_{12} \exp(G_2 - G_1) \quad (3.31)$$

$$r_{32} = r_{23} \exp(G_3 - G_2) \quad (3.32)$$

$$r_{13} = 0 \quad (3.33)$$

とされている。以上より単位時間当たりの状態遷移確率に時間刻み  $dt$  をかけて、

$$P_{ij} = r_{ij} \times dt \quad (3.34)$$

上記の  $P_{ij}$  を本研究の状態遷移確率とし、

reverse transition:  $[0 \dots P_{ji}]$

no change:  $[P_{ji} \dots (1 - P_{ij})]$

forward transition:  $[(1 - P_{ij}) \dots 1]$

$[0 \dots 1]$  の乱数を発生させ、その乱数が上記のどの区間に属するかによって、状態遷移を考える。MonteCarlo 法に従い、このプログラムを十分回実行し、その平均の挙動を調べることによって、確率に従った状態遷移を考察することができると考えられる。

## 3.2 筋収縮計算

### 3.2.1 微小空間における運動方程式の扱い

質量を $m$ 、加速度を $\alpha$ 、粘性抵抗を $\gamma$ 、速度を $v$ 、弾性係数を $k$ 、変位を $x$ 、物体に働く力を $f$ とすると、運動方程式は以下のように表される。

$$f = m\alpha + \gamma v + kx \quad (3.35)$$

しかし、本研究の対象とするスケールは微小空間のため、質量の小さな物質の運動を考える必要がある。微小空間において、エネルギーのオーダーを考えると

生理的条件下での ATP の加水分解によるエネルギー

$$20k_bT = 82[\text{pN nm}] \quad (3.36)$$

長さ $10\mu\text{m}$ のアクチンフィラメントが、 $1\mu\text{m/s}$ で動くときの粘性抵抗によるエネルギー

$$cvl = 9 \times 10^{-8}[\text{pN nm}] \quad (3.37)$$

長さ $10\mu\text{m}$ のアクチンフィラメントが、 $1\mu\text{m/s}$ で動くときの運動エネルギー

$$\frac{1}{2}mv^2 = 1.3 \times 10^{-8}[\text{pN nm}] \quad (3.38)$$

以上の数値から、細胞内微小空間において粘性項及び慣性項は無視してよいと考えられる[22]。よって、細胞内微小空間の運動方程式は

$$f = kx \quad (3.39)$$

と記述することができ、運動方程式を力のつり合い問題として解くことができる。

### 3.2.2 Newton Raphson 法

収縮のシミュレーションを行うことを考え、アクチンフィラメントの Z 帯方向へ常に一定の外力が働いているとする。アクチンフィラメントにかかる力はこの外力と、確率的な Cross-Bridge による力である。アクチンフィラメントの運動のシミュレーションは 3.2.1 で述べたように上記の力の釣り合い位置を求めれば良い。釣り合い条件は連立非線形方程式となるため、Newton Raphson 法を用いて、釣り合い位置を求める。表 3-3 に以降説明で用いる記号を記す。

表 3-3 : 用いる記号説明

|                               | 記号                                                  |
|-------------------------------|-----------------------------------------------------|
| i 番目のアクチンサイトの z 方向変位          | $z_i$                                               |
| i 番目のアクチンサイトの xy 平面での回転変位     | $\theta_i$                                          |
| i 番目のアクチンサイトへミオシンが発生させる力      | $f_i(z_i, \theta_i)$                                |
| i 番目のアクチンサイトへミオシンが発生させる z 方向力 | $F_i(z_i, \theta_i) = f_i(z_i, \theta_i) \cdot e_z$ |
| i 番目のアクチンサイトへミオシンが発生させるモーメント  | $M_i(z_i, \theta_i)$                                |
| 外力                            | $F_{external}$                                      |
| アクチンサイト間の弾性係数                 | $K_a$                                               |
| アクチンサイト間のねじり剛性                | $G_a$                                               |
| アクチンフィラメントの境界弾性係数             | $K_{bc}$                                            |
| アクチンフィラメントの境界ねじり剛性            | $G_{bc}$                                            |

合計 338 個のアクチンサイトは 2 つで対と考えるため、考える要素は 169 個である。それぞれについての z 方向の力の釣り合いとモーメントの釣り合いの式を用いると、解くべき方程式は 338 個となる。まず z 方向の力の釣り合いについて考えると、

$$\left\{ \begin{array}{l} K_a z_2 - K_a z_1 + F_1(z_1, \theta_1) = 0 \\ K_a z_3 + 2K_a z_2 - K_a z_1 + F_2(z_2, \theta_2) = 0 \\ \vdots \\ K_a z_{i+1} + 2K_a z_i - K_a z_{i-1} + F_i(z_i, \theta_i) = 0 \\ \vdots \\ K_a z_{169} + 2K_a z_{168} - K_a z_{167} + F_{168}(z_{168}, \theta_{168}) = 0 \\ K_a z_{168} - K_a z_{169} + F_{169}(z_{169}, \theta_{169}) - K_{bc} + F_{external} = 0 \end{array} \right. \quad (3.40)$$

同様に、z 方向のモーメント釣り合いを考えて、

$$\left\{ \begin{array}{l} G_a \theta_2 - G_a \theta_1 + M_1(z_1, \theta_1) = 0 \\ G_a \theta_3 + 2G_a \theta_2 - G_a \theta_1 + M_2(z_2, \theta_2) = 0 \\ \vdots \\ K_a \theta_{i+1} + 2G_a \theta_i - G_a \theta_{i-1} + M_i(z_i, \theta_i) = 0 \\ \vdots \\ G_a \theta_{169} + 2G_a \theta_{168} - G_a \theta_{167} + M_{168}(z_{168}, \theta_{168}) = 0 \\ G_a \theta_{168} - G_a \theta_{169} + M_{169}(z_{169}, \theta_{169}) - G_{bc} = 0 \end{array} \right. \quad (3.41)$$

上記の非線形連立方程式を Newton Raphson 法で解く。

### 3.2.3 微分

Newton Raphson 法で方程式を解く際に必要になる  $F_i, M_i$  の  $z_i, \theta_i$  微分を以下に記す。

$$\frac{\partial F_z}{\partial z} = \begin{cases} -k_1 \left( 1 - \frac{l_o}{l} + \frac{l_o(z_m - z)^2}{l^3} \right) & (0 \leq x) \\ -\frac{k_1(z_m - z)^2}{l^2} \left( \frac{k_2}{k_1} \right)^{\frac{l-l_o}{x_o}} + \frac{k_1 x_o}{\log \left( \frac{k_2}{k_1} \right)} \left( 1 - \left( \frac{k_2}{k_1} \right)^{\frac{l-l_o}{x_o}} \right) \left( \frac{(z_m - z)^2}{l^3} - \frac{1}{l} \right) & (-x_o \leq x < 0) \\ -k_2 + \left( k_2 x_o - k_2 l_o + \frac{k_1 x_o \left( 1 - \frac{k_2}{k_1} \right)}{\log \left( \frac{k_2}{k_1} \right)} \right) \left( \frac{(z_m - z)^2}{l^3} - \frac{1}{l} \right) & (x < -x_o) \end{cases} \quad (3.42)$$

$$\frac{\partial F_z}{\partial \theta} = \begin{cases} \frac{k_1 l_o r}{l^3} (z_m - z) (y_m \cos \theta - x_m \sin \theta) & (0 \leq x) \\ \frac{k_1 r}{l^3} (z_m - z) (y_m \cos \theta - x_m \sin \theta) \left( \left( \frac{k_2}{k_1} \right)^{\frac{l-l_o}{x_o}} - \frac{x_o}{l \log \left( \frac{k_2}{k_1} \right)} \right) & (-x_o \leq x < 0) \\ \frac{r}{l^3} (z_m - z) (y_m \cos \theta - x_m \sin \theta) \left( k_2 x_o - k_2 l_o + \frac{k_1 x_o \left( 1 - \frac{k_2}{k_1} \right)}{\log \left( \frac{k_2}{k_1} \right)} \right) & (x < -x_o) \end{cases} \quad (3.43)$$

$$\frac{\partial M}{\partial z} = \begin{cases} \frac{k_1 l_o r}{l^3} (z_m - z) A(r, \theta) & (0 \leq x) \\ \frac{k_1 r}{l^2} \left( \left( \frac{k_2}{k_1} \right)^{\frac{l-l_o}{x_o}} - \frac{x_o}{l \log \left( \frac{k_2}{k_1} \right)} \left( 1 - \left( \frac{k_2}{k_1} \right)^{\frac{l-l_o}{x_o}} \right) \right) (z_m - z) A(r, \theta) & (-x_o \leq x < 0) \\ -\frac{r}{l^3} \left( k_2 x_o - k_2 l_o + \frac{k_1 x_o \left( 1 - \frac{k_2}{k_1} \right)}{\log \left( \frac{k_2}{k_1} \right)} \right) (z_m - z) A(r, \theta) & (x < -x_o) \end{cases} \quad (3.44)$$

$$\frac{\partial M}{\partial \theta} = \begin{cases} \frac{k_1 l_o r^2}{l^3} \left( 1 - \frac{l_o}{l} \right) (y_m \cos \theta - x_m \sin \theta) A(r, \theta) - k_1 r \left( 1 - \frac{l_o}{l} \right) (x_m \sin \theta + y_m \cos \theta) & (0 \leq x) \\ \frac{k_1 r^2}{l^2} \left( \left( \frac{k_2}{k_1} \right)^{\frac{l-l_o}{x_o}} - \frac{x_o}{l \log \left( \frac{k_2}{k_1} \right)} \right) (y_m \cos \theta - x_m \sin \theta) A(r, \theta) \\ - \frac{k_1 x_o r}{l \log \left( \frac{k_2}{k_1} \right)} \left( 1 - \left( \frac{k_2}{k_1} \right)^{\frac{l-l_o}{x_o}} \right) (x_m \sin \theta + y_m \cos \theta) & (-x_o \leq x < 0) \\ -\frac{r^2}{l^3} \left( k_2 x_o - k_2 l_o + \frac{k_1 x_o \left( 1 - \frac{k_2}{k_1} \right)}{\log \left( \frac{k_2}{k_1} \right)} \right) (y_m \cos \theta - x_m \sin \theta) A(r, \theta) \\ - r \left( k_2 + \left( k_2 x_o - k_2 l_o + \frac{k_1 x_o \left( 1 - \frac{k_2}{k_1} \right)}{\log \left( \frac{k_2}{k_1} \right)} \right) \frac{1}{l} \right) (x_m \sin \theta + y_m \cos \theta) & (x < -x_o) \end{cases} \quad (3.45)$$

$$A(r, \theta) = (\sin \theta (x_m - r \cos \theta) - \cos \theta (y_m - r \sin \theta))$$

### 3.3 比較解析

#### 3.3.1 結合可能性を考えるアクチンサイトの個数についての比較

3次元モデルを作成することで、今まで考えられなかった、最近接アクチンサイトと隣り合った両アクチンサイトとの結合まで考えることが可能になった。その意義を確かめるために、最近接アクチンサイトのみとの結合を考えたモデルと、最近接アクチンサイトとその両隣のアクチンサイトまで考えたモデルで比較検証を行った。

#### 3.3.2 ミオシンの初期位相の影響

3次元モデルを作成する過程で、ミオシンは常にアクチンフィラメントの中心軸方向へ向いているのかという疑問が生じた。ミオシンフィラメントを剛体として考えているため、ミオシンの飛び出る初期位相によって、滑り運動の挙動は変化すると考えられる。特に3次元モデルとなることで回転運動を考えると、ミオシンの初期位相によってアクチンフィラメントの回転が助長されることになる可能性がある。それらを確かめるために、図 3-10 の4条件の初期位相を比較検討した。図 3-10 左中を **left** モデル、右中を **right** モデル、左下を **far** モデル、右下を **near** モデルと呼ぶこととする。図 3-10 は実際のモデルを可視化したものであるため、ミオシンフィラメント及び **S1** は存在しないことに留意されたい。

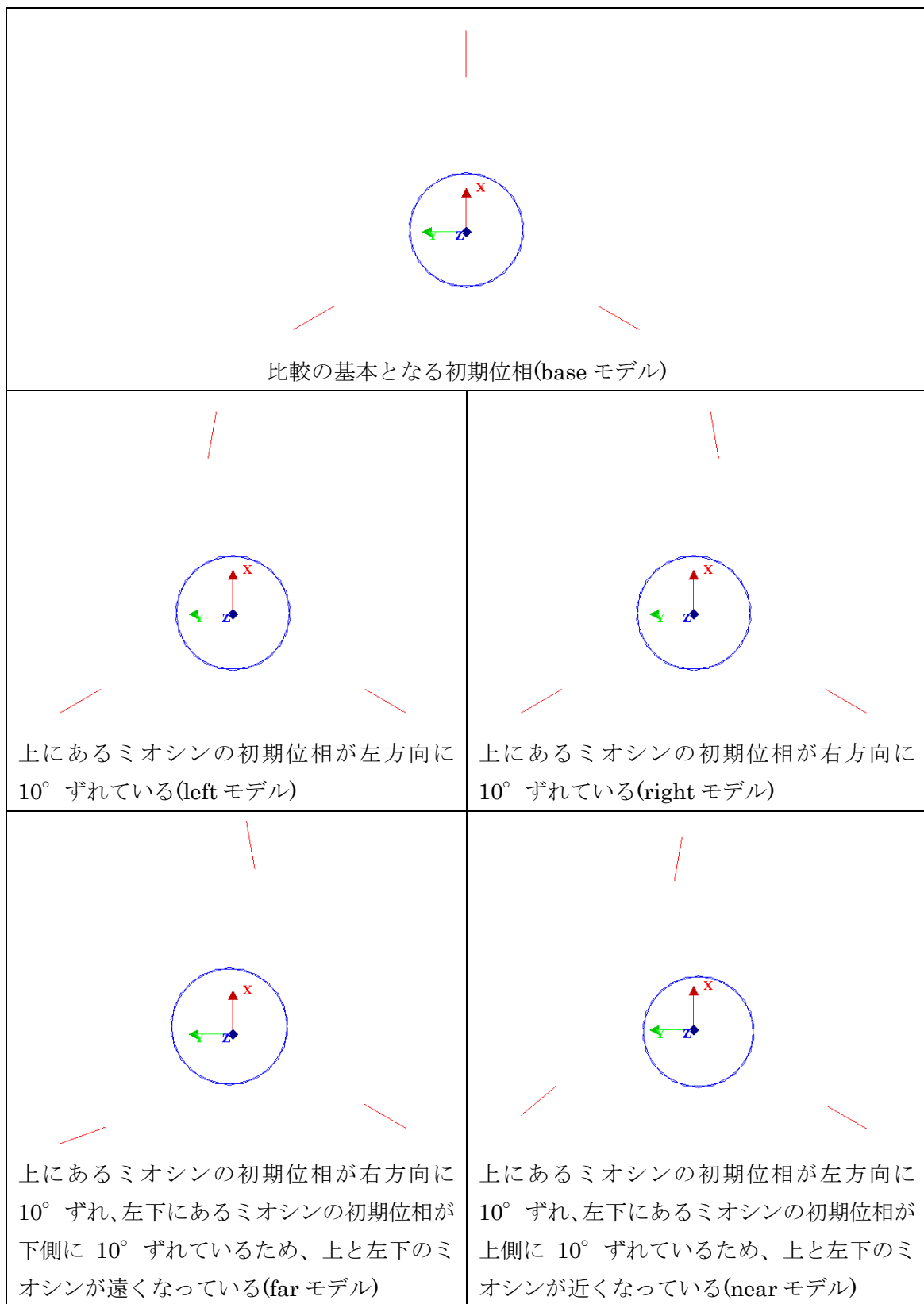


図 3-10 : モデル xy 平面図(初期位相)

赤はミオシン S2、青はアクチンサイトを表す。

### 3.3.3 線形バネモデルと非線形バネモデルの比較

3.1.3 において、ミオシン S2 ドメインの非線形性について言及した。既存の線形モデルで 3 次元のものがいないため、比較解析として、線形モデルの解析も行う。線形ばねの場合、以下のように熱揺らぎ及び力の計算は簡潔に行える。

$$F(l) = kl \quad (3.46)$$

$$U(l, r) = \frac{1}{2}kl^2 + \frac{1}{2}kr^2 \quad (3.47)$$

$$PDF(l, r) = \frac{\exp\left(\frac{U(l, r)}{k_b T}\right)}{D(l, r)} \quad (3.48)$$

$PDF(l, r)$ と同様にその他の計算も、非線形のもの同様に行う。

### 3.3.4 ひずみが付与された場合の結合確率の影響

筋肉は長軸方向と垂直な方向に圧力を受けると収縮速度が小さくなる。この実験事実を再現するために、圧力がかかった上でひずみが付与されたと仮定し、アクチンフィラメントとミオシンフィラメントの距離の再定義を行い、解析する。その他の計算は他のものと同様に行う。一つ目の圧力は等方的にかかるとし、アクチンフィラメントと全てのミオシンの距離を 0.9 倍にした。もう一つのひずみは上下方向に圧力がかかっているとし、非圧縮性物体の仮定の下、ミオシンフィラメントの中心を結ぶ三角形の面積が変わらないように、三角形の高さが 0.9 倍、底辺が $\frac{1}{0.9}$ 倍となるようにした。図 3-11 にモデルの xy 平面図を示す。図 3-11 真ん中を等方性圧縮モデル、下を繊維直角方向一軸圧縮モデル(以下、一軸圧縮モデル)とする。

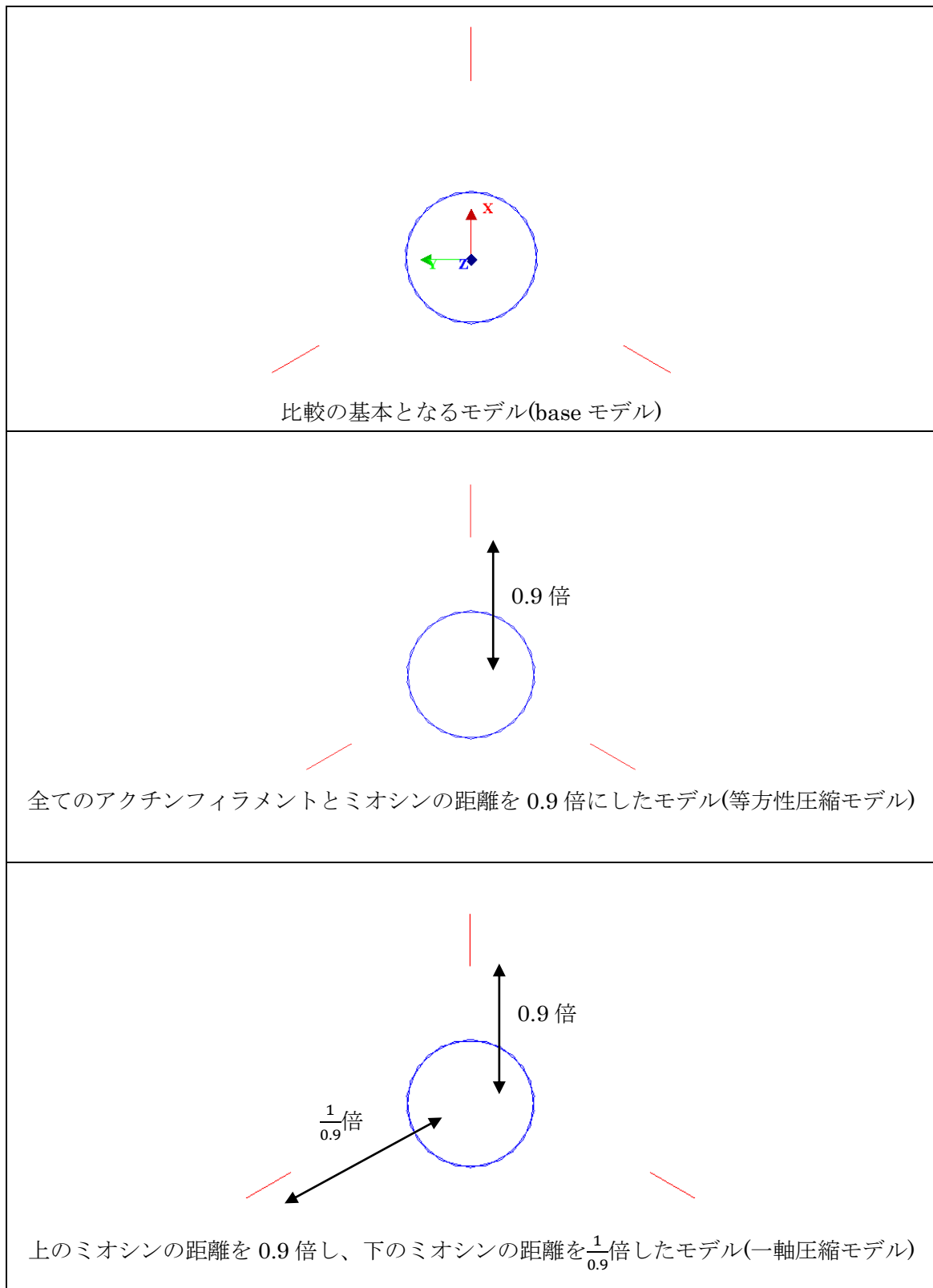


図 3-11 : モデル xy 平面図(ひずみ付与)

赤はミオシン S2、青はアクチンサイトを表す。

## 第 4 章 解析結果

### 4.1 解析条件の検討

#### 4.1.1 time step 幅の検討

必要な time step 幅について検討を行った。time step の影響が一番大きいと考えられる荷重 10 [pN] の場合について、繰り返し回数 100 回とし、time step 幅 2.5, 1, 0.5, 0.25, 0.125 [ms] の条件で平均速度及び標準誤差を算出した。計算結果を図 4-1 に記す。図 4-1 より、time step 幅 1, 0.5, 0.25 [ms] では同じ挙動を示すことがわかった。計算時間が最も短くて済む 1 [ms] が解析条件として適当であると考えられる。

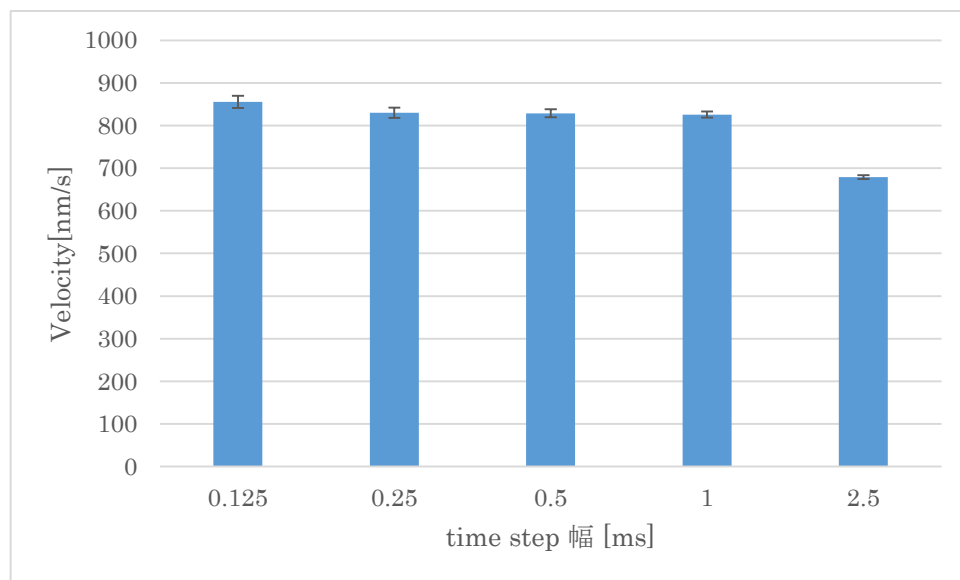


図 4-1 : 収縮速度の time step 幅への依存性

#### 4.1.2 繰り返し回数の検討

繰り返し回数の検討として、繰り返し回数 100 回と 1000 回について、外力 10 pN、time step 幅 0.125 ms の条件で、それぞれ 10 回計算を行い、平均速度の標準誤差を算出した。計算結果を表 4-1 に示す。繰り返し回数 100 回で標準誤差はかなり小さくなっているが、1000 回の 95% 信頼区間に 100 回の平均速度が入っていない。解析の開始時にアクチンが大きく動くことがあり初期条件が速度に影響することがあり、処理が影響した可能性があると考えられる。

表 4-1：繰り返し回数の検討

| 繰り返し回数      | 100 [回]              | 1000 [回]             |
|-------------|----------------------|----------------------|
| time step 幅 | 0.125 [ms]           | 0.125 [ms]           |
| 外力          | 10 [pN]              | 10 [pN]              |
| 平均速度        | 855.76 [nm/s]        | 846.24 [nm/s]        |
| 標準誤差        | 7.052 [nm/s] (0.82%) | 2.290 [nm/s] (0.27%) |
| 95%信頼区間     | 841.66~869.87 [nm/s] | 841.66~850.82 [nm/s] |

今回使用した解析条件を以下に示す。Time step 幅については計算時間の制約から今回は 2.5ms を使った。

|             | 値          |
|-------------|------------|
| time step 幅 | 2.5 [ms]   |
| time step 数 | 100 [step] |
| 繰り返し回数      | 100 [回]    |
| 絶対温度        | 280 [K]    |
| 細胞内リン酸濃度    | 2 [mM]     |

## 4.2 妥当性確認

### 4.2.1 張力-速度関係

作成したモデルの妥当性確認として、等張性収縮条件における張力-速度関係を比較する。図 4-2 は 1997 年に Edman らが実験で得た結果[23]で、図 4-3 は今回のモデルで得た張力-速度関係であり、Double hyperbolic と呼ばれるグラフの特性を再現した。実験結果の図 4-2 の横軸は最大引張応力で正規化されている。最大引張応力は 0.1-0.12 MPa であり、単純に本モデルの考慮断面積を掛けると最大張力は約 80-100 pN となる。実験は筋肉組織を用いて行われており、筋原線維の体積割合は筋肉組織の約 50-60%程度であることから、筋原線維部が出した最大張力はその倍弱と考えられ、今回の解析結果~150 pN は定量的に一致しているといえる。一方速度に関しては、図 4-2、図 4-3 の単位は同一であるが、解析の値は実験の 1/4 程度となり、定量的な一致は得られなかった。次節に示す結合数の不一致などの修正により改善の可能性が考えられる。

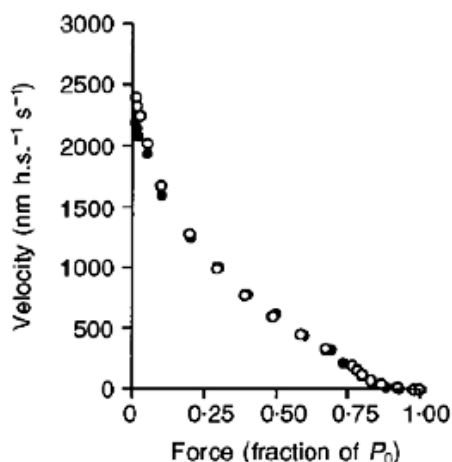


図 4-2：張力-速度関係(論文[23]より転載  
Journal of Physiology の許諾済み)

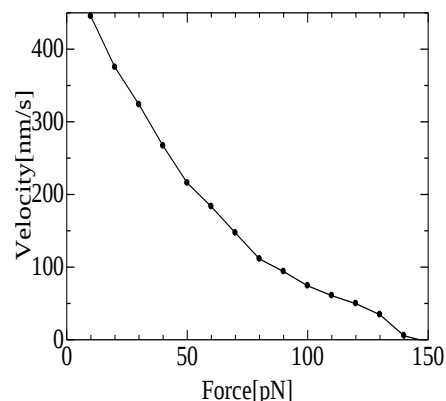


図 4-3：張力-速度関係(非線形、結合可能性  
3 個)

#### 4.2.2 ミオシンの結合数

筋収縮が起こる際、ハーフサルコメア内で Cross-Bridge を形成しているミオシンは全ミオシンの 1/3 程度とされている。本モデルの結合数を見ると、各ステップの平均が 25.0 個となっており、本モデルのミオシンの総数は 54 個のため、結合しているアクチンの割合が 1/3 より大きく、結合可能アクチンサイトの数が増えたことに対するモデルパラメータの変更が必要であると考えられる。

### 4.3 結合可能なアクチンサイトの数に対する比較

ミオシンとアクチンサイトの結合可能性を、1つのミオシンに対して、最近接アクチンサイト 1つのみとの結合可能性を考えたモデルと、その両隣を含めた 3 個との結合可能性を考慮したモデルで比較を行った。図 4-4 は 2 つの張力-速度関係を比べたものである。結合可能性 1 個の場合、結合可能性 3 個の場合と比べて、低外力下での最大速度が大きい一方で、速度が 0 になる外力の大きさは 2 条件の値が比較的近いという結果となった。表 4-2 は 1 ステップで数え上げた状態 3 ミオシンの平均個数を記している。結合可能性 1 個の場合は実際の結合個数も少なくなるという結果が得られた。これは 2 つのモデルで反応速度は同一の条件で解析を行ったためだと考えられる。結合状態ミオシンのバネである S2 の長さ分布を 2 つのモデルで比較した (図 4-5)。結合可能性 3 個の S2 の長さの分布は結合状態ミオシンの S2 の釣り合い位置(35nm)から結合可能性 1 個の分布に比べ裾野が広がっている。特に、釣り合い位置より短いものが増えているのがわかる。結合可能領域が広がったことにより、S2 が短い位置から遠い位置までの結合が増えたものと考えられる。このことにより、進行方向逆向きの力が大きくなり、最大速度が結合可能性 1 個のものに比べて小さくなったのではないかと考えられる。

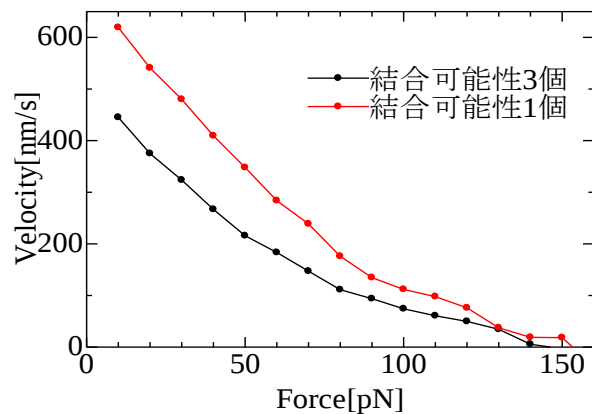


図 4-4 : 張力-速度関係(結合可能性比較)

表 4-2 : 状態 3 ミオシンの平均個数(結合可能個数比較)

| モデル        | 状態 3 ミオシンの平均個数 |
|------------|----------------|
| 結合可能個数 3 個 | 25.0           |
| 結合可能個数 1 個 | 19.6           |

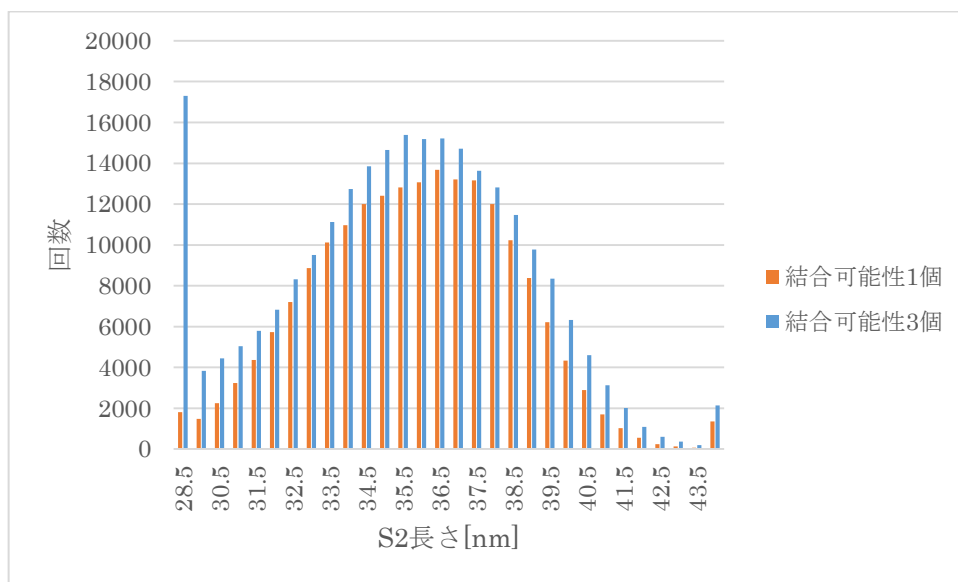


図 4-5 : 状態 3 ミオシンの S2 長さの分布(結合可能個数比較, 10pN)

## 4.4 ミオシンの初期位相の検討

ミオシンがアクチンフィラメントの中心軸方向を向いていない時、力がどのように発生するか確かめるため、3.3.2 に記述している通り、基本となる base モデルを含め、5 つのモデルにて比較を行った。図 4-6、表 4-3、図 4-7 より張力-速度関係や Cross-Bridge 形成に関して、差が見られなかった。また、初期位相の違いがあるにもかかわらず、図 4-8 からアクチンフィラメントは一定方向にねじれるようなことは起こらずに、 $0^\circ$  近傍で振動を繰り返すという結果となった。これらのことから、構造上アクチンフィラメントの中心軸を向くことのできないミオシンも、中心軸を向いているミオシンと同様に Cross-Bridge を形成し、力を発生させることができると考えられる。

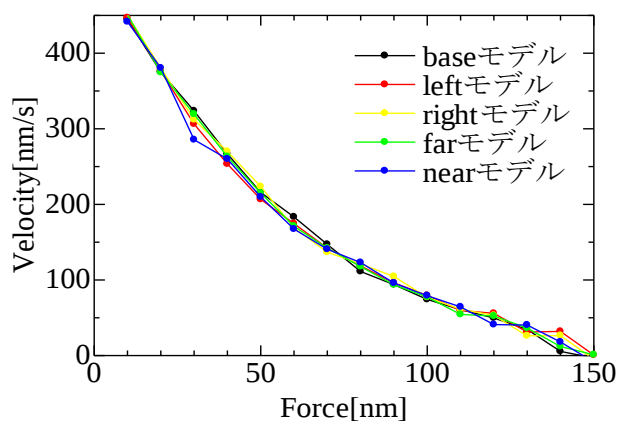


図 4-6 : 張力-速度関係(初期位相比較)

表 4-3 : 状態 3 ミオシンの平均個数(初期位相比較)

| モデル       | 状態 3 ミオシンの平均個数 |
|-----------|----------------|
| base モデル  | 25.0           |
| left モデル  | 25.1           |
| right モデル | 25.2           |
| far モデル   | 24.8           |
| near モデル  | 24.7           |

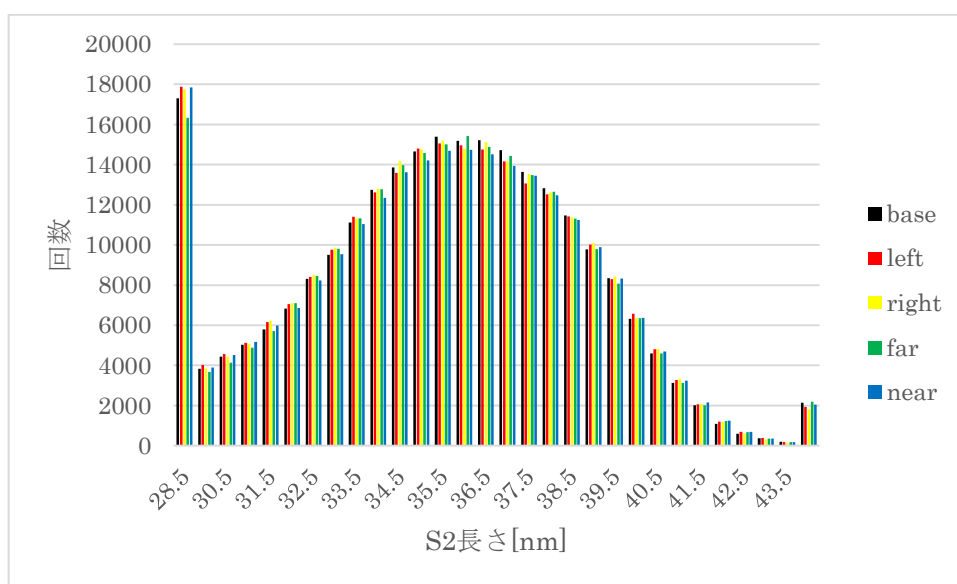


図 4-7 : 状態 3 ミオシンの S2 長さの分布(初期位相比較)

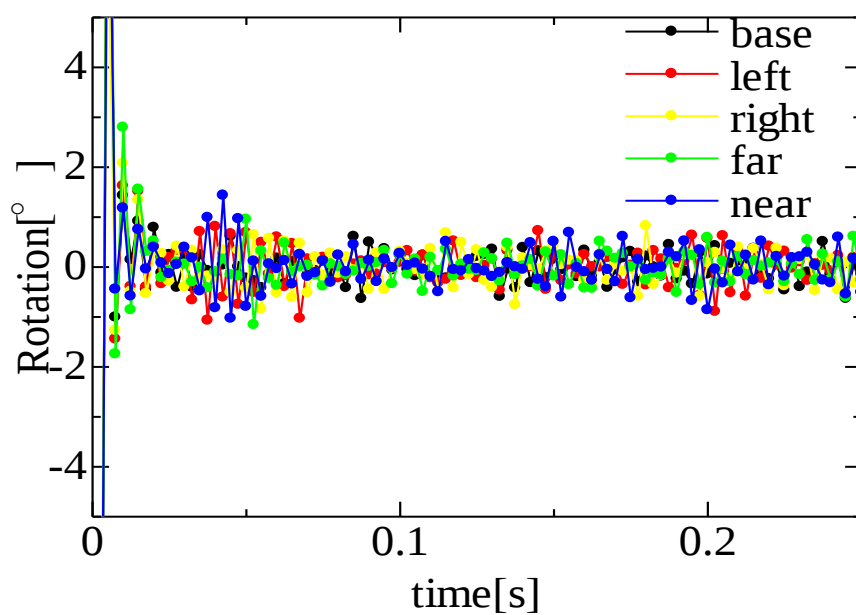


図 4-8 : アクチンフィラメントの回転

## 4.5 線形バネモデルと非線形バネモデルの比較

比較解析のために結合確率に対する係数は全て等しく行った。その結果、図 4-9 からわかるように、線形モデルでは筋収縮における張力-速度関係に見られる双曲線形状が見られず、外力に対し直線的に速度が減少する結果となった。また非線形バネモデルと比べ速度が小さくなった。表 4-4 に示すように線形バネモデルでは平均のミオシン結合数は非線形のものよりも大きく、図 4-10 より釣合い時の S2 長さの分布は非線形モデルと比べ、正方向に向かって裾野が広がっているが、負方向の分布は非線形のものとは比べ小さい。

線形バネモデルは、その線形性から、S2 長さに対する確率密度関数は正規分布の形状をしており、S2 が伸びた状態での確率密度は非線形バネモデルより大きい。しかし、S2 が縮んだ状態での結合が、正方向変位と同様の大きさの力を負方向変位に対しても働かせてしまうことが、収縮速度への影響として大きかったことが分かる。このことより、線形バネによる存在確率の優位性よりも、非線形バネの負領域で収縮の邪魔をしないことの優位性の方が、筋収縮において大きいことが分かった。

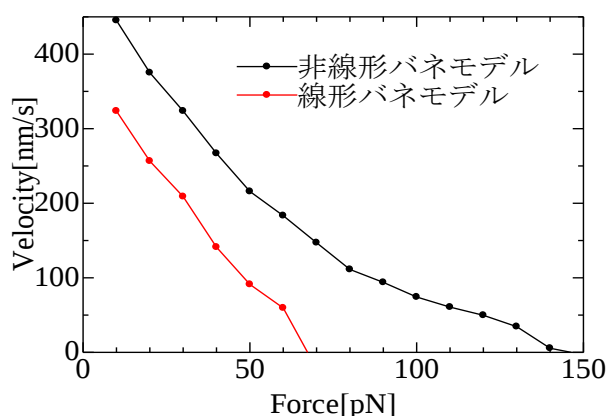


図 4-9 : 張力-速度関係(線形-非線形比較)

表 4-4 : 状態 3 ミオシンの平均個数(線形-非線形比較)

| モデル | 状態 3 ミオシンの平均個数 |
|-----|----------------|
| 非線形 | 25.0           |
| 線形  | 28.1           |

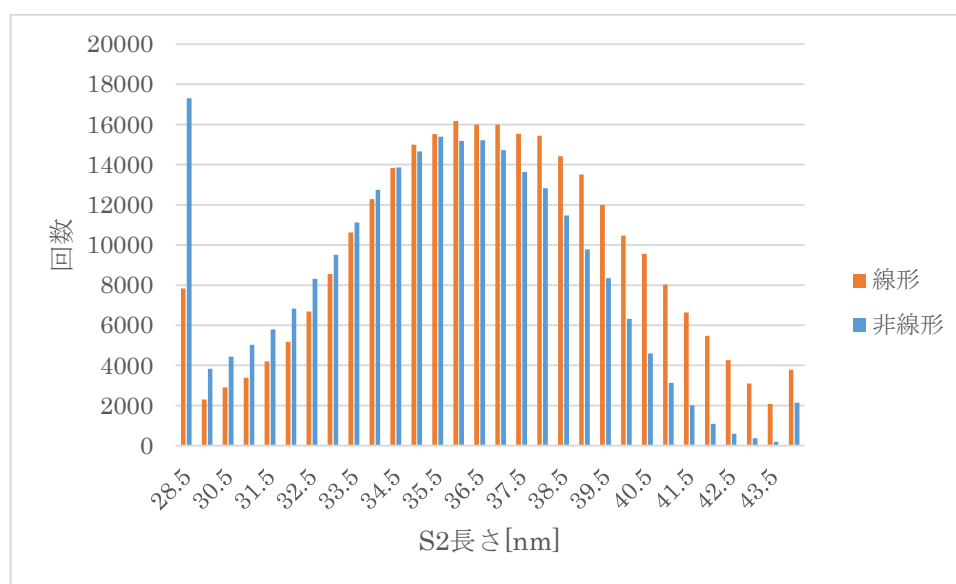


図 4-10 : 状態 3 ミオシンの S2 長さの分布(線形-非線形比較, 10pN)

## 4.6 ひずみを付与したモデルとの比較

### 4.6.1 等方性圧縮モデルとの比較

図 4-11 より、最大速度が等方性圧縮モデルのほうが大きく、速度 0 になる外力大きさは概ね等しい。しかし、表 4-5 より、ミオシンの結合数はほとんど変わらず、図 4-12 より、Cross-Bridge を形成したミオシンの長さも変わらないという結果を得た。

結合数が変わらないことは、ミオシンの  $r$  方向への曲げ剛性は伸び方向の剛性と比べ 0.01~0.1 倍であり、曲がりやすいことから、ミオシンの  $r$  方向への熱ゆらぎの存在確率がミオシンの  $r$  方向変位に対して、1 割の変化では大きく変わらないことを示している。ミオシンを  $r$  方向に 1 割近づけたにかかわらず S2 の長さの分布がほとんど等しいため、等方性圧縮モデルは  $z$  方向への伸びが base モデルと比べ、大きくなっている。ミオシンが正面のミオシンに 35 [nm] の釣り合い位置で結合した場合、base モデルと等方性圧縮モデルの  $z$  方向伸びの差は 0.07 [nm] となる。そのことにより進行方向への力が増加し、最大速度が増加したと推察できる。

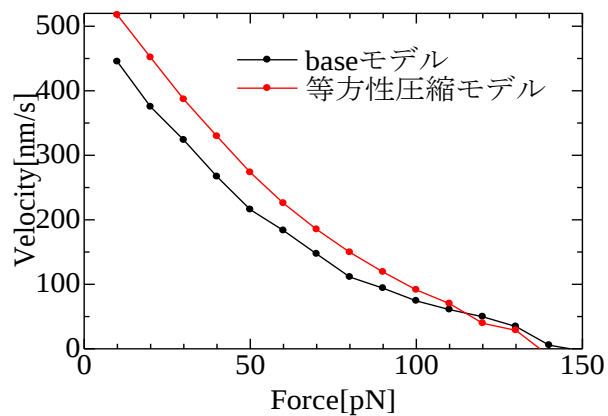


図 4-11：張力-速度関係(等方性圧縮モデル)

表 4-5：状態 3 ミオシンの平均個数(等方性圧縮モデル)

| モデル      | 状態 3 ミオシンの平均個数 |
|----------|----------------|
| base モデル | 25.0           |
| 等方性圧縮モデル | 25.2           |

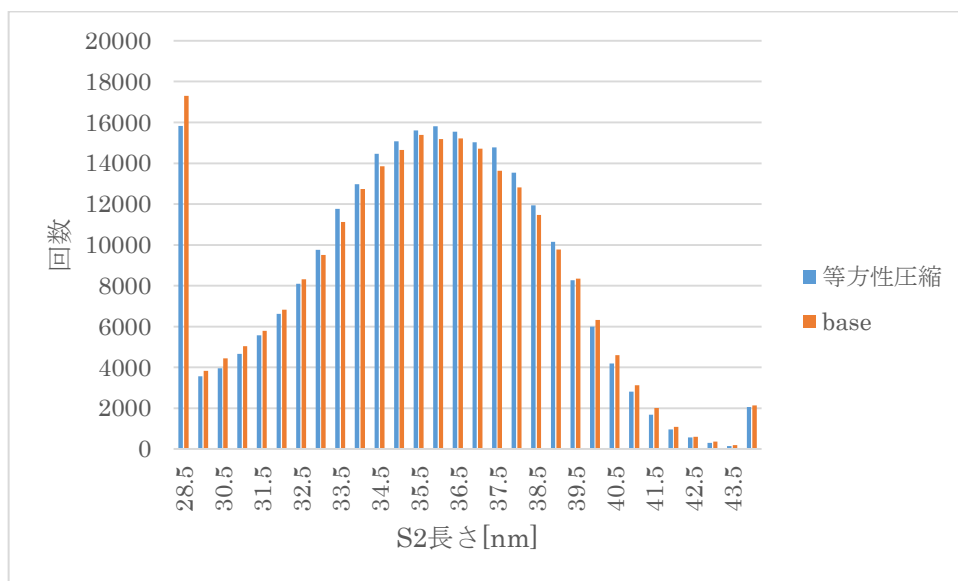


図 4-12：状態 3 ミオシンの S2 長さの分布(等方性圧縮モデル, 10pN)

#### 4.6.2 繊維直角方向一軸圧縮モデルとの比較

図 4-13 より、一軸圧縮モデルは外力が大きくなるに連れて base モデルと比べて、大きい減速率で減速していき、速度 0 になる外力が base モデルと比べ小さいことがわかる。また表 4-6 から、結合しているミオシンの個数が少ないことがわかり、図 4-14 と合わせると、一軸圧縮モデルはピーク付近の結合数が base モデルと比べて少ないと見て取れる。しかし、張力 10 [pN] での速度は殆ど変わらないため、低荷重下での釣り合い位置付近での結合数は大きく影響を与えないと考えられる。また、図 4-15 に記したように高荷重下での結合は S21 が長くなる範囲に偏ることによって、張力との釣り合いをとっているが、その際に、結合数の少なさが最大張力への影響が大きいと考えられる。

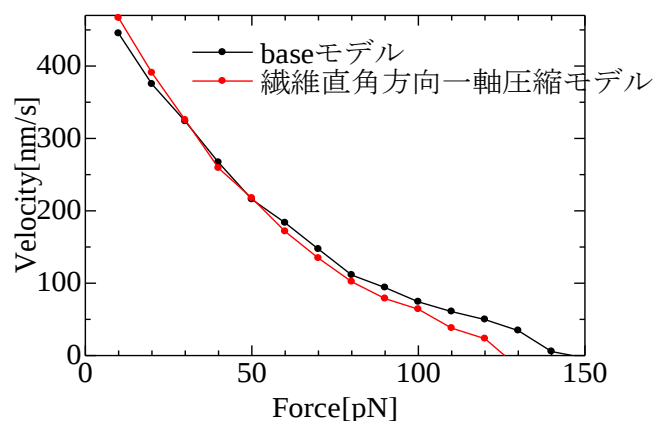


図 4-13 張力-速度関係(一軸圧縮モデル)

表 4-6 : 状態 3 ミオシンの平均個数(一軸圧縮モデル)

| モデル      | 状態 3 ミオシンの平均個数(10pN) | 状態 3 ミオシンの平均個数(120pN) |
|----------|----------------------|-----------------------|
| base モデル | 25.0                 | 24.0                  |
| 等方性圧縮モデル | 22.7                 | 20.4                  |

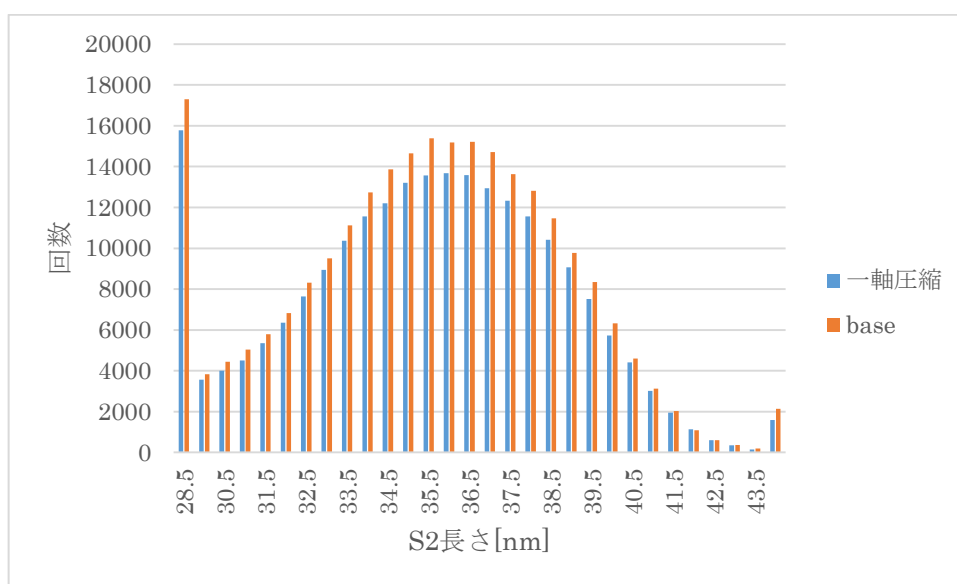


図 4-14 : 状態 3 ミオシンの S2 長さの分布(一軸圧縮モデル, 10pN)

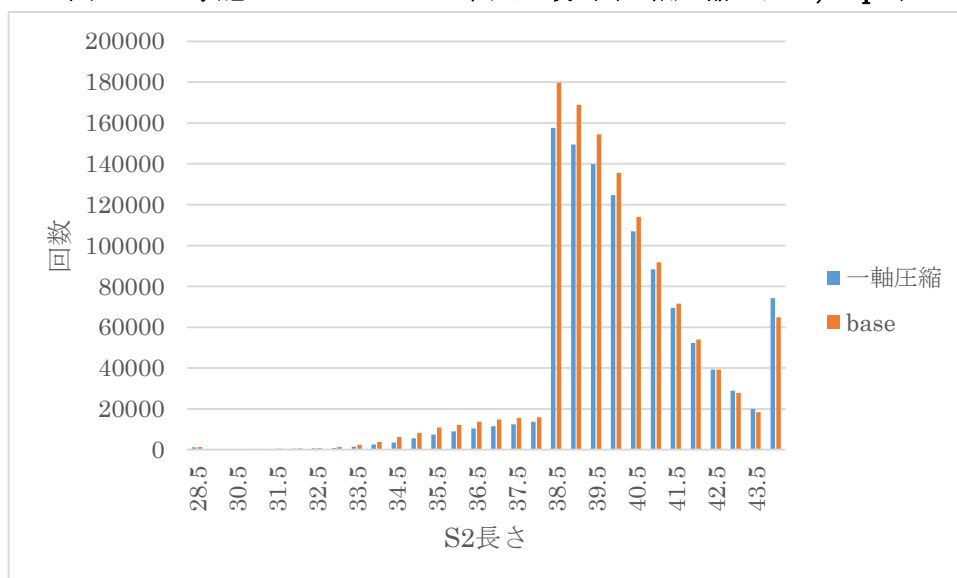


図 4-15 : 状態 3 ミオシンの S2 長さの分布(一軸圧縮モデル, 120pN)

## 第 5 章 結言

本研究ではハーフサルコメアを 3 次元に配置し、アクチンフィラメントの回転運動、ミオシンのサブフラグメント 2 の非線形性を考慮したモデル開発を行った。

最近接アクチンサイトのみへの結合を考えるモデルに対し、3 次元形状にしたことで考慮が可能になった隣接するアクチンサイトへの結合を考えるモデルは、結合数を 1.28 倍にする一方、得られる収縮速度は小さくなった。

線形と非線形モデルの比較では、**Cross-Bridge** 形成確率に用いる確率密度関数が変わるため、結合したミオシンの **S2** の長さに対する分布には明らかな差が見られた。また、線形バネモデルの方が **S2** の長さ分布自体は力を大きく働かす位置で結合しているのに関わらず、非線形バネモデルの方が全体として大きな力を発生させた。ミオシンバネの非線形性、特に負の領域での剛性の低さがスムーズな収縮力発生に重要であることを示した。

加えて、従来のモデルでは考える事の出来なかった 3 次元的な初期位相、ひずみの与える影響を調べた。3 次元の初期位相は収縮運動に大きな影響を与えなかったが、等方性圧縮によるアクチン・ミオシンフィラメント間の短縮は最大速度を大きくし、一軸圧縮は最大張力を大きくするという結果を得た。

本研究の課題点として、モデルの絶対値の妥当性が確認できていないこと、**Cross-Bridge** 形成時の **S2** 長さにおいて、短すぎるものの数が多いことなどが挙げられ、より適切なモデリングの検討が今後の課題である。

## 第 6 章 謝辞

本研究は多くの方々のご教授とご協力により実現したものであり、ここに感謝の言葉を述べさせていただきます。

指導教員であった酒井教授には研究会の際など、的確なアドバイスや質問をしていただき研究の助けとなりました。ありがとうございました。

酒井教授には研究発表の際にへらへらしめないなど基本的なことから、研究内容の深いところまで、さまざまな助言をいただきました。研究のほかにもよく声をかけていただき、時に危機感をあおり、時に冗談で気を休めさせてもらい、精神的に大いに助けていただきました。心から感謝しています。

波田野助教授には感謝の言葉がいくつあっても足りません。本研究のすべての過程で波田野先生のご指導、ご助力をいただきました。プログラム作成も現象の理解も遅く、疑問点をうまく言語化できない私に親身に真摯に対応していただいたおかげで、研究を進めることができました。紅一点にもかかわらず、研究室に華やかさと活気をもたらしてくれる波田野先生がいることで、研究室生活を楽しむことができました。ありがとうございました。

研究室の先輩方や同期にも大変お世話になりました。広大な研究スペースでしょうもない話やゲームをしたかと思えば、まじめに研究内容の相談に乗っていただき、さまざまな場面で数えきれないほどの楽しさと励みをいただきました。この環境があったからこそ、研究室に足を運びパソコンに向かうという習慣ができたのだと思います。

最後に、大学卒業まで私を経済的、精神的に支えてくれた両親に私の最大の感謝の意を表したいと思います。ありがとうございました。

## 第 7 章 参考文献

- [1] A. F. Huxley, “The Journal of Physiology, Vol. 243, No. 1 Frontispiece,” *J. Physiol.*, vol. 243, no. 1, pp. 1–43, 1975.
- [2] N. Ken’ichi and S. Hiroshi, “Dynamic analysis of the structure and function of sarcomeres,” *Biochim. Biophys. Acta*, vol. 587, no. 4, pp. 540–555, 1979.
- [3] E. Pate and R. Cooke, “A model of crossbridge action: the effects of ATP, ADP and Pi,” *J. Muscle Res. Cell Motil.*, vol. 10, no. 3, pp. 181–196, 1989.
- [4] T. L. Daniel, A. C. Trimble, and P. B. Chase, “Compliant realignment of binding sites in muscle: Transient behavior and mechanical tuning,” *Biophys. J.*, vol. 74, no. 4, pp. 1611–1621, 1998.
- [5] E. Behrmann, M. Müller, P. A. Penczek, H. G. Mannherz, D. J. Manstein, and S. Raunser, “Structure of the rigor actin-tropomyosin-myosin complex,” *Cell*, vol. 150, no. 2, pp. 327–338, 2012.
- [6] A. Vilfan, “Twirling motion of actin filaments in gliding assays with nonprocessive myosin motors,” *Biophys. J.*, vol. 97, no. 4, pp. 1130–1137, 2009.
- [7] J. F. Beausang, H. W. Schroeder, P. C. Nelson, and Y. E. Goldman, “Twirling of actin by myosins II and V observed via polarized TIRF in a modified gliding assay.,” *Biophys. J.*, vol. 95, no. 12, pp. 5820–5831, 2008.
- [8] N. Volkmann, D. Hanein, G. Ouyang, K. M. Trybus, D. J. DeRosier, and S. Lowey, “Evidence for cleft closure in actomyosin upon ADP release.,” *Nat. Struct. Biol.*, vol. 7, no. 12, pp. 1147–1155, 2000.
- [9] M. Kaya and H. Higuchi, “Nonlinear elasticity and an 8-nm working stroke of single myosin molecules in myofilaments.,” *Science*, vol. 329, no. 5992, pp. 686–689, 2010.
- [10] H. E. Huxley, A. Stewart, H. Sosa, and T. Irving, “X-ray diffraction measurements of the extensibility of actin and myosin filaments in contracting muscle.,” *Biophys. J.*, vol. 67, no. 6, pp. 2411–21, 1994.
- [11] K. Wakabayashi, Y. Sugimoto, H. Tanaka, Y. Ueno, Y. Takezawa, and Y. Amemiya, “X-ray diffraction evidence for the extensibility of actin and myosin filaments during muscle contraction,” *Biophys. J.*, vol. 67, no. 6, pp. 2422–2435, 1994.
- [12] W. Takumi, Y. Kazunori, O. Jun Ichi, K. Taro, S. Seiryō, and H. Toshiaki, “Ventricular fiber optimization utilizing the branching structure,” *Int. j. numer. method. biomed. eng.*, vol. 32, no. 7, 2015.
- [13] I. Adamovic, S. M. Mijailovich, and M. Karplus, “The Elastic Properties of the

- Structurally Characterized Myosin II S2 Subdomain: A Molecular Dynamics and Normal Mode Analysis,” *Biophys. J.*, vol. 94, no. 10, pp. 3779–3789, 2008.
- [14] 山本啓一 and 丸山工作, 筋肉. 化学同人, 1986.
  - [15] N. Suzuki, H. Miyata, S. Ishiwata, and K. Kinoshita, “Preparation of bead-tailed actin filaments: estimation of the torque produced by the sliding force in an in vitro motility assay,” *Biophys. J.*, vol. 70, no. 1, pp. 401–8, 1996.
  - [16] H. Kojima, A. Ishijima, and T. Yanagida, “Direct measurement of stiffness of single actin filaments with and without tropomyosin by in vitro nanomanipulation,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 91, no. 26, pp. 12962–6, 1994.
  - [17] R. W. Lymn and E. W. Taylor, “Mechanism of adenosine triphosphate hydrolysis by actomyosin,” *Biochemistry*, vol. 10, no. 25, pp. 4617–4624, 1971.
  - [18] J. A. Dantzig, Y. E. Goldman, N. C. Millar, J. Lacktis, and E. Homsher, “Reversal of the cross-bridge force-generating transition by photogeneration of phosphate in rabbit psoas muscle fibres,” *J. Physiol.*, vol. 451, pp. 247–78, 1992.
  - [19] K. a Fichthorn and W. H. Weinberg, “Theoretical Foundations of Dynamic Monte-Carlo Simulations,” *J. Chem. Phys.*, vol. 95, no. 2, pp. 1090–1096, 1991.
  - [20] N. J. Córdoba, B. Ermentrout, and G. F. Oster, “Dynamics of single-motor molecules: the thermal ratchet model,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 89, no. 1, pp. 339–43, 1992.
  - [21] a J. Hunt, F. Gittes, and J. Howard, “The force exerted by a single kinesin molecule against a viscous load,” *Biophys. J.*, vol. 67, no. 2, pp. 766–81, 1994.
  - [22] 吉岡誠, ナノピコスペースのイメージング. 日本生物物理学会, 1997.
  - [23] K. A. P. Edman, A. Månsson, and C. Caputo, “The biphasic force-velocity relationship in frog muscle fibres and its evaluation in terms of cross-bridge function,” *J. Physiol.*, vol. 503, no. 1, pp. 141–156, 1997.