

生体分子モーターの 1 分子計測と動作メカニズム

(京大院理) ○西山雅祥、寺嶋正秀

E-mail: m-nishi@kuchem.kyoto-u.ac.jp

生き物が持つ大きな特徴として、「動き」を上げることができる。多くの個体は筋肉を用いて移動することが可能であり、また、細胞レベルでも細胞分裂や形態の変化などのように動きを伴う現象が数多く存在する。こうした生き物の動く機能を分子レベルで担っているのが、生体分子モーターと呼ばれる蛋白質である。キネシン分子は ATP を加水分解しながら微小管に沿って一方向に運動する代表的な分子モーターであり、細胞内では物質輸送などを行っている。我々の研究の最終目的は、キネシンがどのようなメカニズムで駆動しているのか、その化学反応過程を明らかにすることにある。これまでの研究により、キネシン分子は分子周囲のランダムなブラウン運動を排除するのではなく、むしろ、巧みに利用することによって、一方向性の滑り運動を引き起こしている可能性が示唆されている。もし、この仮説が正しいならば、キネシンの滑り運動の温度依存性を調べることにより、方向性のないブラウン運動から方向性のある運動を取り出す仕組みを調べることができるであろう。本研究では、近年開発された 2 つの 1 分子計測の手法をもちいて、キネシン 1 分子が微小管上を滑り運動する様子を直接観測し、その運動速度の温度依存性を調べた。1 分子イメージング法では、キネシン分子に修飾させた 1 蛍光色素の蛍光像を検出することで、滑り運動の観測が可能である (Fig. 1a, b)。また、光ピンセットを用いた 1 分子ナノメートル計測法では、キネシンにポリスチレン球 (Bead) を吸着させ、Bead の散乱光を検出することで、分子の運動を観測できるようになる (Fig. 1c, d)。その結果、キネシンは、温度上昇とともにその滑り速度が増加することが、明らかになった。1ATP 毎に進む距離は、温度に依存せず常に 8nm であることから、ATP のもつ化学エネルギーから滑り運動となる力学エネルギーをとりだす反応時間が温度に依存することになる。討論会中では、反応速度論的な運動解析を元にして、ブラウン運動から一方向性の運動を生み出すメカニズムに関して議論する予定である。

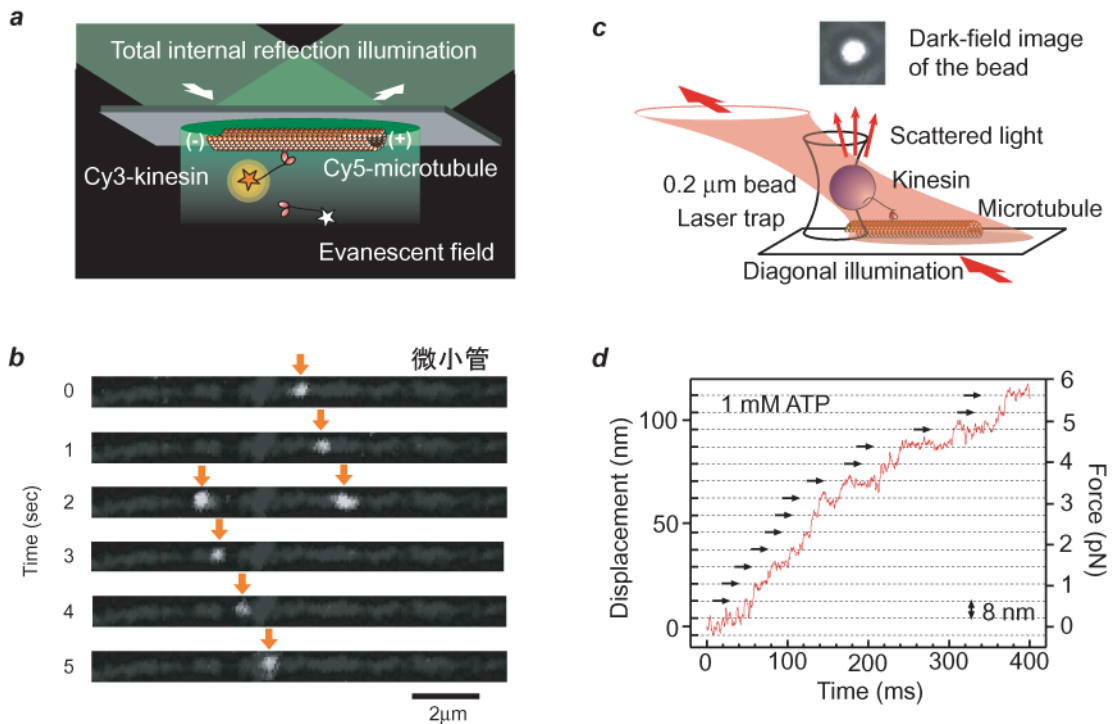


Figure 1 キネシンの1分子計測

a, 全反射によるエバネッセント照明法を用いた1分子イメージング。キネシンを蛍光色素 Cy3 で標識し、1分子のキネシン分子が微小管上を運動する様子を観察する。**b**, 微小管とその上を滑り運動するキネシン分子の連続写真。Cy5 で標識された微小管の蛍光像と Cy3-キネシンの蛍光像を重ね合わせてある。各矢印は微小管に沿って動く蛍光スポット（キネシン）を指している。**c**, 光ピンセットを用いた1分子ナノメートル計測。Bead にキネシン1分子を吸着させることで、光ピンセットによる操作が可能になり、また、その散乱光を計測することにより、その位置をナノメートルの分解能で計測できる。**d**, キネシンの8nm ステップ。500 Hz のローパスフィルターを通したキネシン1分子の変位。生理条件に近い条件下（高 ATP 濃度、低負荷、室温）において、8nm ステップを観測できたのは世界で初めてである。

参考文献

Nishiyama, M., E. Muto, Y. Inoue, T. Yanagida & H. Higuchi. Substeps within the 8-nm step of the ATPase cycle of single kinesin molecules. *Nature Cell Biol.* **3**, 425-428 (2001).

Nishiyama, M., H. Higuchi & T. Yanagida. Chemomechanical coupling of the forward and backward steps of single kinesin molecules. *Nature Cell Biol.* **4**, 790-797 (2002).