3P125

時間変調のかかったポテンシャル場でのブラウン運動と分子モーター

○江崎 誠治¹、柳田 敏雄^{1,2} (¹ 阪大院・医学系・情報生理、² 科技振・1分子過程プロジェクト)

生体分子の1分子計測技術の発展を受けて、ミオシン分子などのモーター蛋白質の動作原理についての議論が高まっている。最近の実験成果に拠れば、ATP の加水分解による化学エネルギーを使うことで、ミオシン分子はアクチンフィラメント上を順方向と逆方向に揺らぎつつも、平均として一方向に進むことが示されている (順/逆変位の比は 9:1)。他の生体分子同様、ミオシン分子は熱揺らぎにさらされた環境にありながらも効率良く機能していることから、その背後には熱揺らぎ程度の大きさのエネルギーを利用して一方向に動くメカニズムの存在が推測される。では、この一方向性の運動は如何にして実現されているのか? この疑問に答えるべく、我々は非対称ポテンシャル場に変調を与えた系に於いて、ブラウン運動を一方向性の運動に変換する為に必要な要素の抽出を目指している。

この目的から、周期的で非対称な構造をもつ次元ポテンシャル中を運動するブラウン粒子の挙動を数値計算により追跡し、ポテンシャルが運動の方向性に与える影響を評価している。今回、相関を持ったノイズをはじめとする種々の時間変調をポテンシャルに与え、その時の運動特性を解析した。ここでポテンシャルに与えた変調は ATP 由来の化学エネルギーの影響を想定している。主な結果としては、

- ・ポテンシャルに特定の時定数をもつ変調を与えると運動に方向性が生じること
- ・方向性を生む時定数の値は変調の掛け方によらないこと

が挙げられる。これらの知見を元に定量的な議論へと発展させ、1分子計測で観察された運動の指向性とも整合性が持たせられるような条件を模索していく。併せて、今回実現された一方向性の運動が生み出されるメカニズムについても具体的に考察を加えていきたい。

S.Esaki and T.Yanagida : Biased Brownian Movement in a Temporally Modulated Potential as a Model for Molecular Motors

3P127

ミオシンVの大きなステップサイズ、連続性は、長いネックドメインによるものではなくモータードメインの特性である

○田中 裕人¹、本間 和明²、岩根 敦子³、片山 栄作⁴、池辺 礼子²、斎藤 順也²、柳田 敏雄³、池辺 光男² (¹ 科技振・1分子過程プロジェクト、² Dept. of Physiol., Univ. of Massachusetts Medical School、³ 阪大・医、⁴ 東大・医科研)

ミオシン V は 2 つの頭部を持ち、それぞれ 6 個の軽鎖 (LC) 結合部位からなる長い (23nm) ネックをもっている。1 分子測定から、ステップサイズがアクチンの半ピッチ (36nm) に一致すること、電顕像から 2 つの頭部がアクチンピッチをまたいでいることから、長いネックをレバーアームのように使って、アクチンピッチに沿って連続して歩くモデルが提唱されている。これに対し去年の年会では、LC 結合部位の 6 個中 5 個を削除したミュータントミオシン V (以後 M5IQ1) を作成し、光ピンセットを用い 1 分子測定を行った結果、LC 結合部位を削除した M5IQ1 でも、35nm 程度の大きなステップ状の連続的な変位が観察されることを報告した (図 1)。しかし、コントロールとなる 6 つの IQ モチーフをもつミオシン V (以後 M5IQ6) は構築しておらず、IQ モチーフの数がミオシン V の運動特性に、どのような影響を与えるか定量的な解析は行っていないかった。今回、M5IQ6 を構築し、1 分子測定を行った結果、M5IQ1 と同様な連続的なステップ状の変位が観察された (図 2)。詳細な解析の結果、ステップサイズ・連続性ともに M5IQ6 と M5IQ1 で違いがないことがわかった。これらの結果は、レバーアーム

説では説明できない。ミオシン V はアクチンに沿ってバイアスされたブラウン運動している可能性が高い。

H.Tanaka, K.Homma, A.H.Iwane, E.Katayama, R.Ikebe, J.Saito, T.Yanagida, M.Ikebe : The motor domain, not a long neck domain, is responsible for the large step and processivity of myosin V.

3P126

クロスブリッジが生む力は変位に依存するだろうか。

○上野 陽太郎 (GL バイオサイエンス研究室)

我々は multiple interaction が可能なモデルを提案し、1/、定常状態で Hill の式をそっくり導いた。その際に各クロスブリッジが作る力は変位に依存しないと仮定した。この仮定を検討するため、実験結果を詳細に調べた。柳田と石島が得た結果はこの仮定に近いが 2/、それに対し Finer らの結果は線形に減少している 3/。この是非は非常に重要である。もし後者が正しいなら、クロスブリッジが作った力は弾性エネルギーとして蓄えられて放出されることを示唆している。前者ではミオシンとアクチンフィラメント間は平行な配置で測定されているが、後者では角度はランダムであった。そこでこのランダムな角度の効果を見るために、力が変位に依存しないと先ず仮定し、角度は 2 次元面上で均一にランダムな値を取ると仮定した。また、我々のモデルで現れる基本式の 1 つを 1 分子実験に適用し、田中らが得た変位の角度依存性 4/ を $1 - \sin \theta$ に比例すると使った。得られた結果は Finer らの結果とびつたり一致した。したがって、力は変位に依存しないという柳田らの結果や我々の仮定が正しいことが明らかになった。

講演ではさらにエネルギーに関することも論じたい。1. 物理学会 2001 年春学会、ICBP2001 発表予定) 2. T. Yangida and A. Ishijima (1995): Biophys. J. 68, 312s. 3. J. T. Finer et al. (1995): Biophys. J. 68, 291s. 4. H. Tanaka et al. (1998): Biophys. J. 75, 1886.

Y. Ueno : Does force generated by cross-bridges depend on their displacements?

3P128

脳ミオシンVの化学・力学カップリング

○安藤 敏夫、坂本 武史、木下 達也 (金沢大・理・物理)

我々は去年次のことを報告した。ひよこ脳ミオシン V (BMV) はプロセッシブモーターであり、その 1 分子最大滑り速度は $1 \mu\text{m/sec}$ 、最大 Acto-BMV ATPase 活性は 2.4/sec/BMV である。それ故、計算上 1ATP 分解当たり 400nm 滑走することになる (ルースカップリング)。今回は ATP 濃度を変えて運動を観察した。時間・空間分解能を上げるために、II-CCD カメラを用いた。ATP 濃度を下げると、アクチンに結合した BMV は多くの場合直ぐにアクチンから離れてしまう。滑走する場合でもその滑走距離は短かった。この滑走を解析すると、平均で約 60nm のステップ変位を数回繰り返していることが分かった。1ATPase 反応サイクル中に数ステップ滑走後 ADP を放出し、新しい ATP と結合してアクチンから解離すると考えた場合、その滑走時間 (解離する直前の静止時間を除く) は 1ATP を 1 頭部が加水分解するに要する時間 ($1/1.2=0.83$ 秒) に等しくなるはずである。また滑走距離は 400nm に等しくなるはずである。種々の低濃度 ATP 存在下での運動を解析したところ、予想が見事に的中し、滑走時間は約 0.8 秒、滑走距離も約 400nm であった。しかし、400nm の滑走が 1ATPase Cycle 中での現象であるならば、2 つのステップ変位間の時間 (Dwell Time) は ATP 濃度に依存しないと考えられる。実際には、ATP 濃度に強く依存した。この不一致はミオシン V の双頭構造を考慮することで解消された。以上により、1ATP の分解で 400nm 滑走するというルースカップリングが更に強く証明された。

T.Ando, T.Sakamoto and T.Kinoshita : Mechanochemical Coupling in Brain Myosin V