3P129

単頭ミオシンVの運動活性

○木下 達也、坂本 武史、安藤 敏夫（金沢大院、理、物理）

昨年、我々はヒヨコ脳から抽出精製したミオシンVが processive motorであることを報告した。以下2つの目的のために単頭ミオシンVを調製した。(1)単頭でも processive であるかどうかを知る。(2)双頭であるミオシンVよりもデータを単純に解釈できる単頭ミオシンVで運動メカニズムを調べる。

単頭ミオシンVはプロテイナーゼKによる消化で調製を行った。 $-Ca$ でのプロテアーゼ処理では、PEST siteが速く切断され、その後遅れて head 内部が切断された。他方、 $+Ca$ では neck から calmodulin が外れることにより PEST site と同時に neck のC端側が切断された。すなわち neck を持つ単頭ミオシンVが生成された。また、 $+Ca$ でのプロテアーゼ処理後、Cy3-calmodulin と EGTA を加えることにより Cy3 ラベルされた単頭ミオシンVを調製できた。それを用い1分子滑り運動観察を行った。ATP 存在下では単頭ミオシンVの processive 運動は観測されなかった。しかし、ITP 存在下では processive 運動が観測された。 本年会では単頭ミオシンVの調製と運動の詳細について報告する。

T.Kinoshita, T.Sakamoto, T.Ando : Motor activity of single-headed myosin V

3P131

ミオシンV歩行運動のモデル

○今福 泰浩¹、トーマス ニール²、太和田 勝久¹（¹九大院・理・生物、²英国バーミンガム大・物理）

ミオシンVはアクチン繊維上を単分子で Processive に運動することが知られている。ミオシンV単分子をビーズに吸着させ、光ピンセットで負荷を与えながらアクチン繊維上を運動させると約40nmの階段状の変位が観察されるが、このステップサイズはアクチン繊維の螺旋構造の半ピッチとほぼ等しい⁽¹⁾。このことは、ミオシンVがそのネック部分の長さを利用してアクチン繊維上を歩行するように運動しているという考えを支持している。私達は、歩行運動する分子モーター単分子の熱力学とランダム運動の一般理論^{(2),(3)}に矛盾しないようなかたちでミオシンV単分子の歩行運動のモデルを構築して解析を行った。モデル中の速度定数は、Riefら⁽¹⁾が実験で求めた速度定数を元に決定した。解析の結果、モデルは dwell time の実験値をよく再現した。また、運動速度や Randomness Parameter などの張力依存性を予測することが出来た。

(1) Rief et al., *PNAS USA* **97**, 9482-9486 (2000).

(2) Thomas, Imafuku and Tawada, *Proc Roy Soc B*, in press, (2001).

(3) トーマス、今福、太和田、生物物理学会第39回年会, (2001).

Y. Imafuku, N. Thomas and K. Tawada : Model of Myosin V Processive Movement

3P130

光ピンセットを用いたミオシンVIの1分子計測 —ミオシンVIはアクチン上を1分子でプロセス的に運動する—

○岩城 光宏¹、西川 宗⁴、小森 靖則⁴、田中 裕人²、喜多村 和郎²、岩根 敦子¹、池辺 礼子³、池辺 光男³、柳田 敏雄^{1,2,4}（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、³Dept. of Physiol., Univ. of Massachusetts Medical School、⁴阪大院・基礎工）

ミオシンVIは、多分子系の実験により運動方向が従来のミオシンとは逆方向であることが明らかになっている (Wells et al., 1999) が、1分子での特性はよくわかっていない。そこで本研究では、ミオシンVIを吸着させたビーズを光ピンセットで操作しガラス表面上に固定したアクチンと相互作用させ、ビーズ (ミオシンVI) の動きをナノメートル精度で計測した (図1)。

その結果、ミオシンVIはアクチンフィラメント上を1分子でプロセス的に運動することが明らかになった (図2)。プロセス的な運動は1分子イメージング実験 (小森ら、本年会) でも確認された。また、そのプロセス的な変位はステップ状 (階段状) であり (図2) ステップサイズは平均38 nmであった。ミオシンVIは双頭構造でネックドメインにIQモチーフをつだけ持つ首の短いミオシンであり、大きなステップサイズはレバーアームモデルでは説明が出来ない。ミオシンVIは、ネック部位とモーター部位間の角度変化による変位発生とは異なるメカニズムで運動している可能性が高い。

現在、ATP濃度・負荷を変えた条件下での運動を計測中であり、本年会では以上の結果も合わせミオシンVIの運動メカニズムまで含めて議論する予定である。

M.Iwaki, S.Nishikawa, Y.Komori, H.Tanaka, K.Kitamura, A.Iwane, R.Ikebe, M.Ikebe, T.Yanagida : Single molecule nanometry of Myosin VI by optical tweezers -Single Myosin VI molecule moves processively along an actin filament-

3P132

歩行型タンパク質分子モーター：熱力学とランダムウォーク

トーマス ニール²、今福 泰浩¹、○太和田 勝久¹（¹九大院・理・生物、²英国バーミンガム大・物理）

キネシンのような、単分子で歩行運動をする (= processive) タンパク質分子モーターの運動機構に関する熱力学的理論を報告する⁽¹⁾。ここでは、分子モーターの歩行運動が ATP 分解と 1 : 1 に共役 (= tight coupling) すると仮定した。分子モーターは荷重 f に抗して歩行運動しているとする。分子モーターの生化学的反応サイクルについての正反応の速度定数 (複数) の積を逆反応の速度定数 (複数) の積で割った値は、熱力学的考察により、 $\exp[-(\Delta G + u_0 f)/kT]$ に等しいことがわかる；ここで ΔG は ATP 加水分解の自由エネルギー変化で、 u_0 は分子モーターのステップサイズである。この熱力学的関係式を満たさない (例えば、Schnitzer ら⁽²⁾) のモデルは、永久機関となる。速度定数の張力依存性 (これはモデルに依存する) が分かれば、この熱力学的関係式を使って、荷重-滑り速度の関係式や、その ATP 濃度依存性を導くことが出来る。分子モーター歩行運動を ATP 分解によって駆動された偏りのあるランダムウォークとして取り扱うことにより、分子モーターの歩行速度と拡散係数を反応速度定数で表すことが出来た。それらの値と上記の熱力学的関係式を使って Randomness Parameter (Block らが 1994 年に導入し、逆反応の無い場合にだけに於いて式を導いていた) の一般式を導くことが出来た。

1) Thomas, Imafuku and Tawada (2001). *Proc Roy Soc B*, in press.

2) Schnitzer, Visscher and Block (2000). *Nature Cell Biol.* **2** 718-23.

N. Thomas, Y. Imafuku and K. Tawada : Processive molecular motors: thermodynamics and the random walk