

## 2本足モーター, ミオシンVの脚の動きを見る

城口克之 早稲田大学理工学術院物理学科

## 1. | ミオシンV

ミオシンはモータータンパク質の1つで, ATP加水分解反応サイクルで得られるエネルギーを利用してアクチン線維上を1方向に運動する. 長く研究されてきている筋肉のミオシンIIは筋収縮・弛緩を担うことがよく知られているが, ミオシンVは細胞内でRNAや小胞などの‘荷物’をアクチン線維に沿って運搬する輸送モーターである. ミオシンVは1992年に新たなクラスとして名前がつけられ, 翌年, 運動活性が示された<sup>1)</sup>. コイルドコイルによりホモ2量体を形成し, そのコイルドコイルにつながる2本の‘脚’(専門的にはおもにlever armやneckとよばれる)と, その先の‘足’(motor domain, head)を含めた部位で運動を担うことがわかっている(図1a). 脚はそれぞれ6個の軽鎖を結合して比較的硬い構造をもち, 足でATP加水分解反応を触媒し, また, アクチン線維に結合する. 本稿では, ミオシンVの運動の仕組みを筆者らの最近の研究を中心に概説する.

## 2. | ミオシンVの歩き方

ミオシンVが一度アクチン線維に結合すると, 解離するまでにATP加水分解反応を複数回行いながらアクチン線維上を移動することが1999年に示された<sup>2)</sup>(現在はミオシンVのクラスの中でも1回の加水分解反応サイクル中にアクチン線維から解離してしまう種類も見つかっているが, 本稿では前述した運動特性をもつ種類について紹介する). その後, 足(に近い脚の部分)に結合させた蛍光色素1分子による輝点が約75 nmのステップを刻みながら運動することが報告され<sup>3)</sup>, アクチン線維から解離した後足を前方に振り出してあたかも人間のように‘歩く’というモデル(hand-over-hand model)が, 現在広く支持されている.

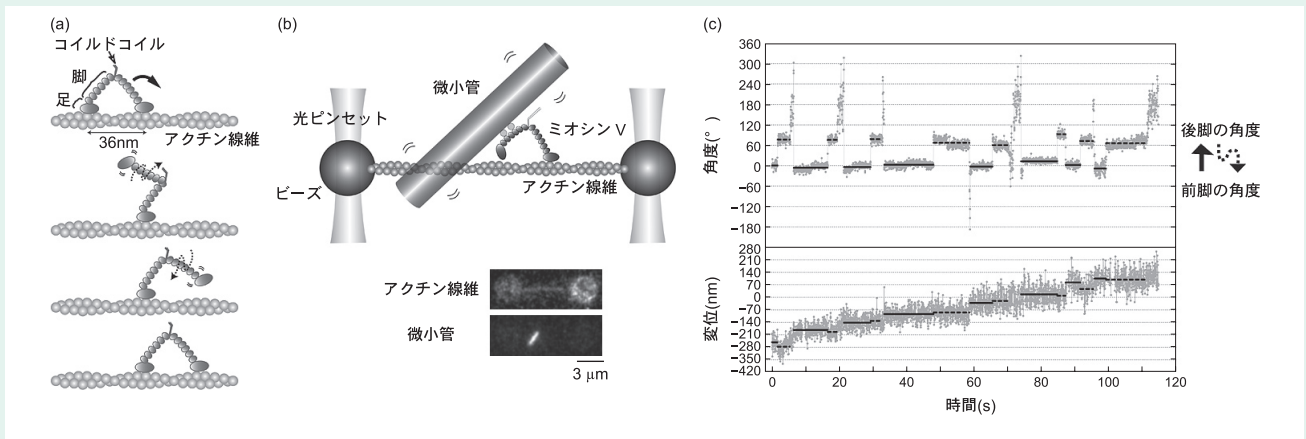
ここで2本足それぞれが結合解離を繰り返してミオシンVが移動することを考えてみる. この時移動は(1)両足結合状態から前足, 後足のどちらかがアクチン線維から離れ, (2)離れた足が結合している足の前

方, または後方に結合する, という2つの過程に分けて考えることができる. (1)で前後どちらの足が解離するか, また, (2)で前方後方どちらに結合するかにより, ミオシンVが前方, または後方にステップするか, さらには足踏み(解離した足が再び同じ位置に結合すること)をするかが決まる.

これまで, 負荷をかけない状態ではミオシンVの後方ステップは報告されていない. また, アクチン線維からの解離を引き起こすミオシンVへのATPの結合が1回起きると1歩前進することが, かねてから統計的に示唆されており, さらに最近, 蛍光性ATPを用いた歩行観察から直接確認された<sup>4)</sup>. したがって(1)では後足の解離が, (2)では離れている足の前方結合がともに高い確率で選択されていると考えられる. これまで後足が選択的に解離する仕組みについては複数の報告がされているが<sup>5)</sup>, 解離した足が前方に結合する仕組み:どのような力を利用して, どのような動きを経て前方に結合するのかは直接示されておらず, 想像の域をでていなかった.

## 3. | 後足が解離後に前方に移動する仕組み

筆者らは脚の動きを捉えるために, 棒状目印(微小管:直径25 nm, 長さ1~2 μm)を軽鎖を介して脚に結合させた. 歩行中の微小管の動きを観察すると(図1b), 前脚, 後脚の角度を反映していると考えられる2つの安定した角度間をスイングすると同時に, アクチン線維に沿って1方向に運動した<sup>6)</sup>. 微小管を系に固定し, アクチン線維の動きを観察する‘逆’の観察系(詳細は文献6)で得た結果も合わせて, 棒状目印は, 1方向性のスイングと, ふらふらと寄り道をしてから次の安定角度へ到達する確率的な振る舞いをするスイングを交互に起こすことがわかった(図1c). それぞれのスイングに伴う足の並進移動を考慮すると, 後足がアクチン線維から解離した後, アクチン線維に結合している前脚は‘腰’の位置を前方に動かす向きに傾き, また, 解離している脚は回転ブラウン運動を経て, 解離した位置から約70 nm先に最終的に



**図 1**  
 (a) ミオシン V の歩行モデル (運動にかかわる部位のみを示した)。後足がアクチン線維から離れると、前足の‘足首’の角度が変わり (実線矢印) 前脚が前方に傾く。アクチン線維から離れた足は柔らかい‘股関節’を支点に回転ブラウン運動をし (破線矢印)、最終的に前方に結合する。(b) 脚の動きの観察。光ピンセットを用いてアクチン線維を吊り、軽鎖を介して脚に結合させた微小管 (棒状目印) の動きを連続観察した。ビーズの大きさ、アクチンの長さ、微小管の長さは任意。アクチンと微小管をそれぞれ異なる蛍光色素でラベルし、蛍光顕微鏡で観察した。文献 6 より改変。(c) 脚の動きの時間経過。アクチン線維に対する微小管 (脚に結合している) の相対的な角度変化と、微小管が結合している脚の足の部位の変位。微小管を系に固定して短い (約 1 μm) アクチン線維の動きを観察し、アクチン線維の動きから解析した (詳細文献 6 参照)。文献 6 より改変。

結合することが明らかとなった (図 1a)。アクチン線維に結合している脚の 1 方向性の角度変化は、ATP の加水分解反応サイクルから得られるエネルギーを利用した力発生であることを、また、解離した脚が回転ブラウン運動をすることはミオシン V の‘股関節’が柔らかいことを示唆している。このようにミオシン V は、硬い構造を利用した力発生と、柔らかい部分をもとにしたブラウン運動を組み合わせ、解離した後足を前方に運んでいると考えられる。前者は 1969 年に H. E. Huxley により筋肉のミオシン II において提唱された、力発生による角度変化説を支持する<sup>7)</sup>。なお解離した脚のブラウン運動は、Dunn and Spudich により、脚に結合させた直径 40 nm の金粒子の位置測定からも示されている<sup>8)</sup>。

#### 4. 離れた足が前方に結合する仕組み

足がアクチン線維に結合するためには、アクチン結合部位がアクチン線維に対して適切な向きをとる必要がある。筆者は、解離した足が前方でアクチン線維に結合するために、結合前に‘つま先’を下げていると考えている<sup>9)</sup>。解離前の後足のようにつま先が上がっている状態で前方のアクチン線維に結合しようとする、たとえば脚が大きく曲がるなどして分子内に歪を生じ、前述した (2) において前方結合の選択確率が下がるからである。これまでにアクチン線維に結合していないミオシン V の‘足首’に 2 つの安定角度があることが電子顕微鏡で観察されてい

るが<sup>10)</sup>、角度変化の実時間観察はされておらず、今後の研究が注目される。

#### 5. おわりに

他の運動モデルも提唱されている。大阪大学柳田グループの岡田らは、ステップ間において腰の位置が、アクチン線維を構成する単量体と同じ幅 (約 5.5 nm) のサブステップを刻み、バックサブステップも伴いながら正味前方に移動することを示した<sup>11)</sup>。これより、離れた後足がすぐに近くのアクチン線維に弱く結合し、線維上を前後にブラウン運動しながら正味前方に移動すると考え、前方への移動と前方での強い結合への遷移の仕組みを提唱している。このように、歩く仕組みの理解に向けて今後も多面的な研究が期待される。

本稿ではおもに機械的な動きについて注目してきたが、たとえばアクチン線維への結合に重要な足の親和性は足に結合している基質に依存すると考えられる。動きや親和性の違いを生み出す基質の結合、分解や解離のタイミングの解明はモーターの本質であるエネルギー変換の仕組みの理解に重要であろう。

#### 謝辞

本稿で紹介した筆者らの研究<sup>6)</sup>は早稲田大学理工学術院の木下一彦氏と共に行った。温かい独特の励ましに深く感謝する。

## 文 献

- 1) Cheney, R. E., O'Shea, M. K., Heuser, J. E., Coelho, M. V., Wolenski, J. S., Espreafico, E. M., Forscher, P., Larson, R. E. and Mooseker, M. S. (1993) *Cell* **75**, 13-23.
- 2) Mehta, A. D., Rock, R. S., Rief, M., Spudich, J. A., Mooseker, M. S. and Cheney, R. E. (1999) *Nature* **400**, 590-593.
- 3) Yildiz, A., Forkey, J. N., McKineey, S. A., Ha, T., Goldman, Y. E. and Selvin, P. R. (2003) *Science* **300**, 2061-2065.
- 4) Sakamoto, T., Webb, M. R., Forgacs, E., White, H. D. and Sellers, J. R. (2008) *Nature* **455**, 128-132.
- 5) Sellers, J. R. and Veigel, C. (2006) *Curr. Opin. Cell Biol.* **18**, 68-73.
- 6) Shiroguchi, K. and Kinoshita, K., Jr. (2007) *Science* **316**, 1208-1212.
- 7) Huxley, H. E. (1969) *Science* **164**, 1356-1366.
- 8) Dunn, A. R. and Spudich, J. A. (2007) *Nat. Struct. Mol. Biol.* **14**, 246-248.
- 9) Kinoshita, K., Jr., Shiroguchi, K., Ali, M. Y., Adachi, K. and Itoh, H. (2007) *Adv. Exp. Med. Biol.* **592**, 369-384.
- 10) Burgess, S., Walker, M., Wang, F., Sellers, J. R., White, H. D., Knight, P. J. and Trinick, J. (2002) *J. Cell Biol.* **159**, 983-991.
- 11) Okada, T., Tanaka, H., Iwane, A. H., Kitamura, K., Ikebe, M. and Yanagida, T. (2007) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **354**, 379-384.



城口克之

### 城口克之 (しろぐち かつゆき)

早稲田大学理工学術院客員講師  
自然科学研究機構岡崎統合バイオサイエンスセンター博士研究員, 日本学術振興会特別研究員を経て2007年4月より現職。

研究内容: モータータンパク質の作動機構

趣味・特技: サッカー, Positive thinking

連絡先: 〒171-0033 東京都豊島区高田 1-17-22

中橋商事ビル新棟 2階 早稲田大学木下研究室

E-mail: katsuyuki@kurenai.waseda.jp