

トピックス

ストレインセンサーが制御するミオシンVIの ブラウン運動整流機構

岩城光宏 大阪大学大学院医学系研究科生体生理医学専攻

1. はじめに

細胞内で小胞輸送を行うモータータンパク質であるミオシンVやVIでは、構造変化を伴った運動と共に、ブラウン運動を経て一方向運動していることが直接観察されている¹⁾。このことは、等方性のブラウン運動から一方向成分を取り出す（整流する）機構が存在することを示すものであるが、その機構の実体はよくわかっていない。本稿では、ミオシンVIのブラウン運動整流機構に焦点を当てた著者らの研究を紹介する。

2. ミオシンVIの二足歩行運動

ミオシンVIは、エンドサイトーシスなどに関与し、細胞骨格であるアクチンフィラメントのレール上で一方向性の輸送運動を行うモーターである。ATPを加水分解し力発生を行うモーター部位（足）を蛍光ラベルし1分子観察を行うことによって、2つの足をもつミオシンVI分子は、交互にレール前方に着地し連続的な二足歩行運動を行うことが明らかになっている²⁾（図1a）。

両足は、歩行運動中のほとんどの時間をアクチンに強く結合している。後足にATPが結合すると後足のみがアクチンから解離してブラウン運動を行い、前方のアクチンに強く結合して1回の歩行が終了する。そのブラウン運動は、前足から伸びたネック部位（脚）先端を支点として行われると考えられる。また、ブラウン運動している足に結合しているATPはADPとPiに分解され、その間、足とアクチンとの親和性は弱い ($K_d \sim 30 \mu\text{M}$)。そのため、ブラウン運動している足はアクチンに結合しても短時間（約1ms）でアクチンから解離し（図1b）、Piが解離するとアクチンと強く安定に結合する³⁾。

3. 前方の着地を保證するストレインセンサー

ブラウン運動している足は、アクチンフィラメントの螺旋ピッチサイズである約70nm前方で着地する。

脚の長さから考えると、着地した位置で両足間には分子内張力が働いていることが予想される。ミオシンVやVIでは、張力（負荷）が足に加わることによってADP解離速度やATP結合速度定数が変調されることが報告されている⁴⁾。著者らはPiの解離速度も同様に張力依存的に変化する可能性を考えた。着地点で分子内張力が加わりPi解離速度が上昇すれば、ブラウン運動していた足はアクチンと強く結合してその位置での着地が保証される⁵⁾。

上記の仮説を実験的に検証するために、光ピンセット法を用いたミオシンの操作を μs の時間領域まで向上させ、Pi解離前の足に張力を加えるシステムを構築した。ミオシンVIの足1個を光ピンセットで操作し、アクチンフィラメントに沿って80 μs の時間でスキャンすると、スキャンの途中で μs から数百msの時間領域に渡る結合がときどき確認された（図1c）。結合時

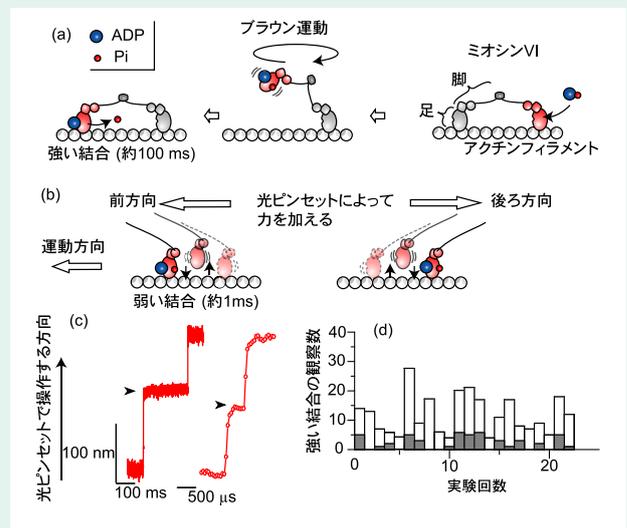


図1 (a) ミオシンVIの二足歩行運動。詳細は本文を参照。(b) ADPとPiを保持した足がアクチンと弱く結合している状態と力を加える方向。(c) 光ピンセットで足をアクチンに沿って走査して得られたデータ。矢印の所で結合が確認できる。(d) 各実験（おのおの異なるミオシンVI分子）での強い結合の観察数。白：後方向負荷時、灰色：前方向負荷時。（電子ジャーナルではカラー）

間は、Pi 解離後の強結合状態での分布（足からの ADP 解離と ATP 結合の逐次反応時に得られる数十 ms でピークをもつ山型の分布）と、310 μ s の時定数をもつ一次の指数減衰分布から構成されていた。310 μ s の分布は、1 ms 程度結合している Pi 解離前の足を μ s 領域の操作によって引っ張り、破断された状態を観察していると考えられた。

Pi 解離後の強結合頻度の負荷方向依存性を調べると、前方向負荷時に比べて後方負荷時では強結合の頻度が上昇していた（図 1d）。詳細は文献 6 に譲るが、Pi 解離速度定数を後方向負荷存在下で見積もると、無負荷時に比べて約 30 倍加速されていた。このことは、無負荷時には、生化学的測定³⁾によって示唆されているように、アクチンと Pi 解離前の足が複数回の結合・解離を経て Pi を放出するのに対し、後方負荷存在下では、1 回の結合で Pi 放出できることを意味する。

ミオシン VI の二足歩行運動に話を戻すと、ATP を結合しブラウン運動している足は、アクチンとときどき弱い結合をしながらもアクチンから解離する。そして、約 70 nm 前方に結合すると、その足に対して後方向に分子内張力が働くため、その位置で Pi を解離し強く結合しやすくなると考えられる（図 2）。張力を感じて Pi を放出しアクチンに強く結合する、もしくは力発生する、この機構を「ストレインセンサー機構」とよび、ブラウン運動している足はこの機構によって前方での強結合を保証されるため、結果としてブラウン運動から一方向成分が取り出されることになる。

アクチンフィラメント上の複数の結合位置を探索することを可能にするブラウン運動と、前方への着地を保証するストレインセンサーの仕組みは、混雑し障害物の多い細胞内環境下で迂回路を探索するための自由度と、後方外部負荷が加わり前方へ弱結合する機会

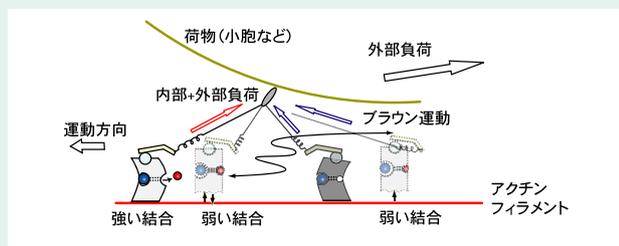


図 2 荷物を結合したミオシン VI の二足歩行モデル。後方向負荷が足に加わると Pi の放出経路（バックドア）が開き、ADP 結合部位（フロントドア）は閉じることで、前方でアクチンと安定した強い結合状態を保つ。（電子ジャーナルではカラー）

少ない条件下でも足が効率的に前方に強結合して仕事を行うことを両立させている。

4. | おわりに

ミオシンの運動機構には諸説あるが、脚が前方に構造変化して一方向運動を行うモデル⁷⁾が最もポピュラーであろう。ミオシン VI の脚もたしかに構造変化が起こるだろうが、脚の角度は比較的不安定であるとの指摘もある⁸⁾。また、脚の構造と硬さについても議論されているところである^{9), 10)}。脚の構造変化によって外部後方負荷に打ち勝つだけの仕事ができなければ、ストレインセンサー機構は方向性制御機構に大きな意味をもってくるだろう。

本研究で重要なのは、ミオシン VI が、張力の「方向」と「強さ」という機械的な信号から、「自身の位置」と「外部状況（負荷）」を感じて応答し、効率的な力発生や外部環境の変化に対応する適応性を獲得する点である。他のモータータンパク質も柔軟に機能するためのストレインセンサー機構を備えているのではないかと期待している。

謝 辞

本研究は、大阪大学大学院生命機能研究科の柳田敏雄教授と共に行ったものである。深く感謝いたします。

文 献

- 1) Shiroguchi, K., Kinoshita, K., Jr. (2007) *Science* **316**, 1208-1212.
- 2) Okten, Z. *et al.* (2004) *Nat. Struct. Mol. Biol.* **11**, 884-887.
- 3) De La Cruz, E. M. *et al.* (2001) *J. Biol. Chem.* **276**, 32373-32381.
- 4) Altman, D. *et al.* (2004) *Cell* **116**, 737-749.
- 5) Yanagida, T. *et al.* (2000) *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B* **355**, 441-447.
- 6) Iwaki, M. *et al.* (2009) *Nat. Chem. Biol.* **5**, 403-405.
- 7) Spudich, J. A. (2001) *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* **2**, 387-392.
- 8) Yildiz, A. *et al.* (2004) *J. Biol. Chem.* **279**, 37223-37226.
- 9) Spink, B. J. *et al.* (2008) *Nat. Struct. Mol. Biol.* **15**, 591-597.
- 10) Mukherjee, M. *et al.* (2009) *Mol. Cell* **35**, 305-315.



岩城光宏 (いわき みつひろ)
 大阪大学大学院医学系研究科助教
 2006 年大阪大学基礎工学研究科博士課程修了。
 博士（理学）。07 年より現職。
 研究内容：モータータンパク質の機械刺激応答および環境応答機構の解明
 連絡先：〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 1-3 ナノバイオロジー棟 7F
 E-mail: iwaki@phys1.med.osaka-u.ac.jp

岩城光宏