

# モータータンパク質とATPの結合

## 1分子で観察

京都大学大学院工学研究科の横川隆司准教授、藤本和也同特定研究員らの研究グループは、分子生物学研究所の飯野亮太教授、青山学院大学理工学部の富重道雄教授らと共同で、ナノ構造（ナノスリット）を用いてモータータンパク質であるキネシンとその運動に必要なアデノシン三リン酸（ATP）分子を同時に1分子観察する手法を開発。これにより、キネシンにATP分子が一つずつ結合する様子をリアルタイムで観察することができるようになり、キネシンが微小管と結合している場合には、ATP分子との結合時間が変化することを明らかにした。

## 京大、分子研など手法開発

キネシンは、細胞骨格を構成する微小管の上を運動することで、細胞小器官やタンパク質の輸送の原動力として働いている。この運動のエネルギー源は、ATPの加水分解反応であることが知られており、その化学反応と力学運動の相関について多くの研究が行われてきた。横川准教授によると、この研究は、ナノ構造を用いて1分子蛍光観察をするZMWという手法を、キネシン-微小管モータータンパク質の分子系に応用することで、キネシンの運動機構解明に迫ろうというアプローチから始まりました」という。

研究グループは、100ナノメートルの幅を持つナノスリット構造に

よって、蛍光観察に必要な励起光の伝播を制限することで、1分子観察時のノイズを抑制した。この手法はZMWsを応用したものでLinear ZMWsと名付け、この手法を用いることで従来の研究で報告されているよりも高い濃度の蛍光標識ATPとキネシンを用いて、1分子観察を行うことができた。

まず、数値シミュレーションを利用してナノスリット構造に励起

光が入射したときの光の分布を計算し、その結果に基づいてスリットの寸法を設計した。ガラス基板の上のアルミ薄膜を電子ビームリングラフィによって加工してナノスリットを製作し、このスリットがLinear ZMWsとして機能することを確認した。その後、ガラス基板に固定したキネシン上を微小管が運動するグラインディングアッセイと呼ばれる実験手法を用い、蛍光ATPが緑色蛍光タンパク質（GFP）を結合させたキネシンへと一時的結合・解離する様子を1分子観察することに成功した。

横川准教授の話「この研究は、機械工学に立脚したナノ加工技術と生物物理学的な課題が融合して実現した学際融合研究の成果です。今後、機械工学といった枠にとられない自由な発想で研究を展開することにより、新たな物理現象や生命現象を明らかにすることを目指します」