

(分子科学研究所*, 総合研究大学院大学**) ○飯野亮太***

E-Mail: iino@ims.ac.jp

キーワード: 分子モーター、モータータンパク質、1分子イメージング、タンパク質工学

【はじめに】

分子モーターは、様々なエネルギー源を利用して一方方向性の運動を行います。ナノサイズの分子モーターの作動原理は、生体分子、合成分子を問わず、マクロなモーターの原理とは異なります[1]。分子モーターは多くの場合、粘性が支配的な溶液中で動作し、このような低レイノルズ数の条件下では、慣性に頼って運動を持続することはできません。また、熱揺らぎによる分子モーターのランダムなブラウン運動は、一方方向性運動の障壁や助けとなります。さらに、運動を駆動するエネルギーの大きさは、熱揺らぎのエネルギーの大きさ $1 k_B T$ (k_B はボルツマン定数) とそれほど変わりません。このような条件下で分子モーターが如何にしてうまく作動するのか、私たちはその仕組みを明らかにしたいと考えています。

私たちのグループでは、光学顕微鏡を用いた高速高精度な1分子イメージング技術を開発し[2, 3]、タンパク質分子モーターの動きの詳細を「みる」ことでその作動原理を理解する研究を推進しています。さらに最近、天然の分子モーターの動きをみるだけでなく、天然に存在しない分子モーターを「つくる」ことでその設計原理を理解する研究も推進しています。本講演では、回転分子モーターV-ATPase [4, 5]とリニア分子モーターキネシン[6]についての成果を、最近の未発表データを含めてご紹介します。

【回転分子モーターV-ATPase】

V-ATPaseはATP(アデノシン三リン酸)の化学エネルギーを駆動力として回転運動を行い、細胞膜を介する濃度勾配に逆らってイオンを能動輸送するポンプとして働きます(Fig. 1)。

V-ATPaseは、膜に埋まった V_0 と膜から突き出した V_1 の2つの分子モーターの複合体です。 V_1 はATPを分解しながら一方方向に回転し、この回転運動に連動して V_0 が回転することでイオンの能動輸送を行います。しかしながら、 V_0 の回転運動の素過程や律速過程は可視化されておらず、 V_1 で生み出された回転運動のエネルギーがどのように V_0 に伝わりイオン輸送が行われるのかは明らかになっていませんでした。

私たちは、腸球菌 *Enterococcus hirae* 由来V-ATPase (EhV₀V₁)の高速高精度1分子イメージングで V_1 と V_0 の回転運動の素過程を可視化し、2つのモーターが硬く繋がって連動していることを初めて明らかにしました[5]。この結果は、 V_1 と V_0 が大きく振れずに連動することでイオンの逆流を防ぎつつ、能動輸送を達成することを示唆しています。

また、つくるアプローチとして最近、 V_0 の回転子のイオン結合部位を改変し、イオン選択性をナトリウムイオン(Na^+)から水素イオンに変換することに成功しました。さらに、回転子を構成するサブユニット界面に新たな Na^+ 結合部位をつくり、イオン/ATP比を2倍にする試みにも挑戦中です。

【リニア分子モーターキネシン】

キネシンはATPを駆動力として微小管上を直進するリニア分子モーターで、細胞内の小胞輸送等を担っています(Fig. 2)。

最も研究されているキネシン-1は2つのモータードメイン(足)を持ち、ハンドオーバーハンドという様式で運動を行います[6]。この様式では、後足が微小管から解離して前足を追い越して前方に着地する、というサイクルを繰り返します。興味深いのは、微小管上にはキネシン-1の結合できる場所が前後左右に存在するにも関わらず、解離した足は常に前方に着地して直進運動を行う点です。

私たちは、キネシン-1の2本の足のつなぎ方を工夫し、微小管上で螺旋を描きながら運動させることに成功しました。さらに、高速高精度1分子イメージングで運動素過程の詳細を解析し、解離した足が前方だけでなく斜め左や左にも頻繁に結合することで螺旋運動を行うことを明らかにしました。

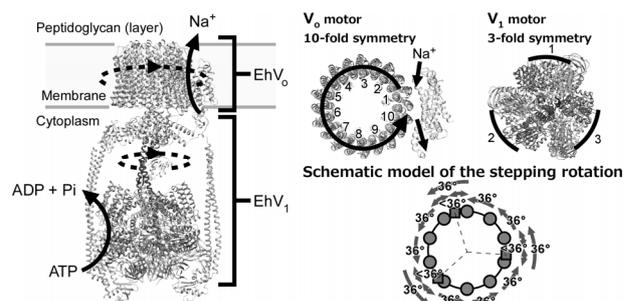
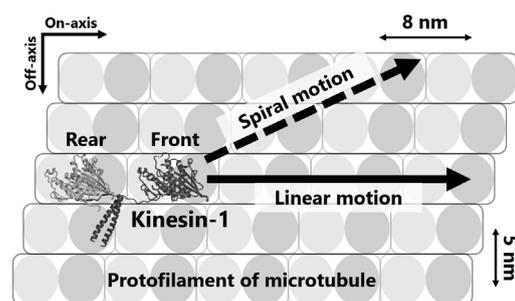
Fig. 1. Rotary molecular motor *Enterococcus hirae* V-ATPase [7]

Fig. 2. Linear molecular motor kinesin-1

【引用文献】

1. Iino R, et al., *Chemical Reviews* 120, 1-4 (2020)
2. Ando J, et al., *Biophys J* 115, 2413-2427 (2018)
3. Ando J, et al., *ACS Photonics* 6, 2870-2883 (2019)
4. Iida T, et al., *J Biol Chem* 294, 17017-17030 (2019)
5. Otomo A, et al., *Proc Natl Acad Sci USA* 119: e2210204119 (2022)
6. Isojima H, et al., *Nat Chem Biol* 12: 290-297 (2016)
7. Burton-Smith RN, et al., *bioRxiv* (2022)