

# プロセッシブミオシンモーターの X 線小角散乱 Solution X-ray Scattering Studies of Processing Myosin Motor

杉本泰伸, 佐藤治, 渡辺慎也, 池辺光男, 若林克三  
Yasunobu Sugimoto<sup>1</sup>, Osamu Sato<sup>2</sup>, Shinya Watanabe<sup>2</sup>,  
Mitsuo Ikebe<sup>2</sup>, and Katsuzo Wakabayashi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Graduate School of Engineering Science, Osaka University, Toyonaka 560-8531, Japan.

<sup>2</sup>Department of Physiology, University of Massachusetts Medical School, Worcester, Massachusetts 01655-0127, USA

\*e-mail: sugimoto@bpe.es.osaka-u.ac.jp

細胞内では、レール様のタンパク質に沿った一方向性の運動を行うモータータンパク質が物質の輸送や運動に用いられている。これらのタンパク質は ATP 加水分解による自由エネルギーを高い効率で運動に変換することができ、その分子機構の解明は生物学における大きな命題の一つである。ミオシンはこのようなモータータンパク質の一種で、多くのスーパーファミリーの存在が確認されている。クラス V ミオシン（ミオシン V）、クラス VI ミオシン（ミオシン VI）はともに細胞内輸送に関連したミオシンで、骨格筋ミオシン II と異なり、アクチンフィラメントから解離することなく大きなステップサイズで長距離を運動する性質を持ち、プロセッシブミオシンと呼ばれる。ミオシン V、ミオシン VI はまた、アクチン上の運動の方向性が互いに逆であるという点で非常に興味深い。すなわち、ミオシン V は他のミオシンと同様にアクチンのプラス端に向かって運動するが、ミオシン VI はアクチンのマイナス端へ向かう運動を示す。このようなプロセッシブミオシンに対し、我々は X 線小角散乱法を用いた実験により ATP の加水分解過程の各構造を調べ、モータータンパク質の動作原理の解明を目標とした。

単頭で二つの IQ モチーフを持つミオシン V (MV-S1IQ2) および単頭のミオシン VI (MVI-S1) は baculovirus 系を用いて発現させたものを用いた。タンパク質濃度は 2-8mg/ml に調製し、2mM の

MgATP あるいは MgADP とリン酸アナログを用いて加水分解中間体の構造を調べた。X 線散乱実験は PF の BL15A1 を利用し、検出器には次元 PSPC を用いた。試料の温度は 20°C とした。

測定した散乱強度曲線はギニエプロットを行い、その小角領域から慣性半径を求めた。複数のタンパク質濃度で求められた慣性半径の値から無限希釈溶液での外挿値を求めた。

実験の結果、ヌクレオチドを結合していない MV-S1IQ2、MVI-S1 の慣性半径はともにおよそ 48Å であり、これは骨格筋ミオシン II の S1 (MII-S1) と同程度であった。MgATP 溶液中での慣性半径は MV-S1IQ2 が MII-S1 と同様におよそ 2 Å の減少を見せ、ATP 加水分解中に分子全体が折れ曲がるような構造変化が生じていることを示唆した。一方、MVI-S1 の慣性半径は MgATP 中でおよそ 3 Å 増加した。リン酸アナログを用いた実験では、M.ADP.Pi および M.ATP の両方の化学状態で MgATP 中と同様の構造変化が生じていることがわかった。これらの結果をより具体的に議論するために、ab initio 法による構造モデルの構築も行った。中間状態 (M.ADP.Pi 状態) のミオシンの構造変化は、MV-S1IQ2 では MII-S1 と似ていたが、MVI-S1 では慣性半径の変化から示唆されるように分子が伸びた様に、S 字に近い構造をしていることが明らかとなった。これらの結果から、ミオシンの運動の方向性と構造変化の対応が明らかとなった。