

- **生体ナノマシン(タンパク質モーター・ダイニン)の大きな分子構造変化を世界で初めて解明**  
～英国科学誌「ネイチャー」で発表～
  - 平成15年2月13日
- 

通信総合研究所(CRL、理事長:飯田尚志)では、今回、関西先端研究センター生体物性グループと英国リーズ大学・構造分子生物学アストベリーセンターとの共同研究によって、タンパク質モーター注1・ダイニン注2の分子構造を電子顕微鏡観察と単粒子解析法注3により詳細に解析し、ダイニン分子がATP注4の加水分解に伴って大きな構造変化を起こすことを世界で初めて明らかにしました。この成果はナノマシンとして機能するタンパク質モーターの持つ多様なインテリジェンス性、情報処理機構の原理解明に迫るものです。

本研究成果は、2月13日発行の学術雑誌「Nature」に掲載されて、その表紙を飾ります。

## <背景>

CRLでは、新しい動作原理に基づいた情報素子の開発の一環として、タンパク質の持つ知的情報処理機構の研究を行ない、タンパク質をバイオナノ情報素子として利用するための技術基盤を創り出しています。特にタンパク質モーターに関する研究では、これまでに世界的な成果を挙げてきました。タンパク質モーターは生物の運動にとって重要なタンパク質です。大きさ数十ナノメートルのタンパク質モーターはATPの加水分解によって得られる化学エネルギーを、タンパク質フィラメント(アクチンや微小管)との滑りという力学エネルギーに変換するエネルギー変換器です。この変換はタンパク質モーターの分子内で生じる構造変化によって行なわれていると考えられています。骨格筋ミオシンで提唱された「首振りモデル」注5が有名ですが、重要なタンパク質モーターの一つであるダイニンは、他のタンパク質モーター、キネシンやミオシンとは異なる運動特性を持つことが示されています。しかし、分子が巨大で、複雑に構築されていることから、その構造に関する研究はあまり進んでいません。

## <本研究成果の概要>

植物プランクトンの鞭毛から精製したダイニンを電子顕微鏡によって観察し、個々のダイニン分子の形態を詳細に解析しました。この結果、ダイニン分子構造をナノメートルの精度で明らかにすることができました。特にATPの加水分解前後のダイニン分子像を詳細に比較検討して、分子全体で約15nmにも及ぶ大きな構造変化を生じることを明らかにしました。この構造変化は、これまで予想されていた小さな領域(ドメイン)注6での構造変化ではなく、複数のドメイン間の相互作用が大きく変化して生じるものと考えられます。

## <今後の展開>

この成果は、ダイニンの運動機構解明という生物物理学上の大きな研究課題にとって重要な知見を含んでいます。これまでに私たちが明らかにしたダイニンの力学特性に加えて、ダイニンの構造変化を詳細に記載したことで、生体ナノマシン・ダイニンの運動機構の解明が一気に進むものと期待されます。また「タンパク質モーターを用いたバイオナノ情報素子構築」の実現に向けて、ドメイン間相互作用という新たな開発の方向性を示すものとなっています。

---

## <連絡先>

関西先端研究センター  
生体物性グループ 大岩 和弘  
Tel 078-969-2230/2234  
Fax 078-969-2239

---

## 研究成果の詳細

タンパク質モーターは、タンパク質フィラメント(アクチンや微小管)とくっついたり離れたりするサイクルを繰り返しながら一方方向へ運動し力を出します。この運動のエネルギーはATPの加水分解から得ています。ATPの加水分解と運動との関わりは、次のような反応サイクルモデルで一般的に説明されています(図1)。

1. ATP加水分解産物(ADPと無機リン酸)を放出したのち、フィラメントと強く結合したモーター(A)に、新たなATPが結合する(AからB)。
2. ATP結合によって、モーターがフィラメントから離れ、モーターは力発生の準備状態に入る(BからC)。
3. モーター上で、ATPの加水分解が起こる(C)。
4. フィラメントの新たな結合部位にモーターが再び結合すると、加水分解産物の放出が起こる。この時、モーターはフィラメントに強く結合して、大きな構造変化(パワーストローク)が起こす。この結果、フィラメントは滑り運動する(DからA)。
5. 加水分解産物放出後、元の1の状態に戻る。

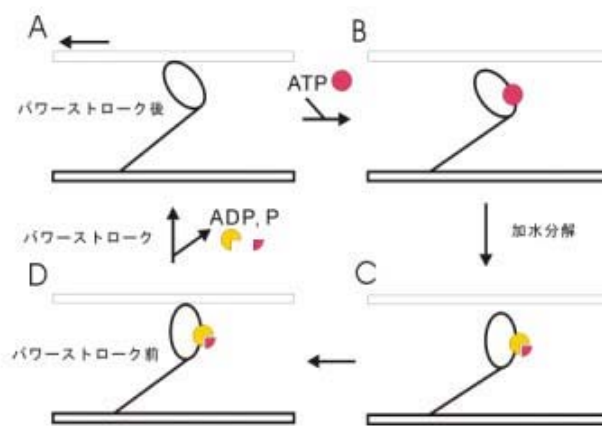


図1. タンパク質モーターにおけるATP加水分解とタンパク質フィラメントの滑り運動との連動。このスキームは骨格筋ミオシンにおいて提唱された古典的なものです。A.加水分解産物を放出後、フィラメントとモーターは強い結合状態にあります。このモーターにATPが結合するとフィラメントから解離します(B)。ATPはモーター上で加水分解され、モーターは構造変化を起こして、パワーストローク前の状態に入ります(C)。モーターはフィラメントの新しい結合部位に結合します(D)。フィラメントとの結合によって加水分解産物の放出が加速され、この放出に伴って、モーターは大きな構造変化(パワーストローク)を行ない、フィラメントは滑り運動します(D-A)。

以上のような、ATP加水分解反応と分子の構造変化サイクルとが連動したサイクルです。ダイニンの場合も、フィラメント(微小管)の運動にはモーターの構造変化が伴うと考えられてきました。これまでに研究されてきたダイニンの分子形態は、ドーナツ状の頭部とそこから突き出した2つの突起構造からなる分子というものです。突起の1つの先端が微小管と結合する部位で、ATPの有無によって微小管と結合・解離を行なう部位とされてきました。微小管との結合部位を含む突起の根元で大きな角度変化が起こり、微小管を運動させるという分子構造変化が予想されています。また、鞭毛内にあるダイニン分子複合体を電子顕微鏡によって解析した結果からは、ダイニン分子全体が屈曲するような構造変化をするというモデルも提唱されています。

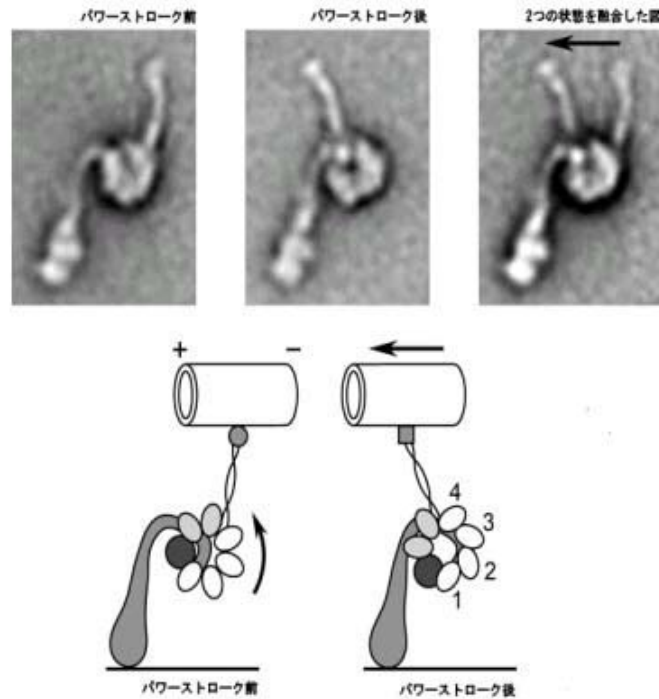


図2. 電子顕微鏡によって観察されたダイニンの分子構造。ATP加水分解に共役した2つの構造が得られました(パワーstroke前と後)。観察された2つの構造からダイニンのパワーstrokeモデル(下図)を提唱しました。タンパク質フィラメント(微小管)との結合部位は、ドメイン1で起こる構造変化の結果、約15nmのstroke(矢印)を起こすと考えられます。なお、力学測定の結果では、ダイニンは微小管の構造周期8nmに対応するステップ状変位を示すことがわかっています。Burgess et al., 2003より改変。

私たちは、ダイニンがエネルギー源であるATPを結合した状態とATPを放出した後の状態を実験的に作りだし、この2状態の分子の全体構造を電子顕微鏡によって詳細に観察・比較検討しました。この結果、パワーstrokeを行なう前の構造とパワーstroke後の構造に対応する分子像を見出しました。観察されたこの2つの構造からダイニンのパワーstrokeモデル(図2. 下図)を提唱しました。微小管との結合部位は頭部から突き出した突起の先端にあります。この結合部位は、ドメイン1で起こる構造変化が増幅され、約15nmのstroke(矢印)を起こします。ドメイン1に結合していたATP(ADP+Pi)が放出される時、ドメイン1が小さな構造変化を起こします。この構造変化に伴って、ドメイン1に続いて突き出しているリンカーが大きく振り動かされます。このリンカーは頭部のリングに沿うようにして頭部の複数のドメインにドッキングするのです。このリンカーの頭部リングへのドッキングが頭部全体を回転させ、その結果、微小管結合部位を持つ突起が大きくstrokeすることになります。これによって、stroke先端に結合していた微小管が滑り運動を起こすと考えられるのです。ドメイン1で起こる小さな構造変化が、ドメイン間相互作用を介して微小管結合部位の大きな構造変化に増幅されていると考えられるのです。

**注1. タンパク質モーター:**

生物の「動き」を司っているタンパク質。タンパク質モーターは生物に普遍的に存在し、3種類に大別されます。骨格筋の収縮に代表されるミオシンや細胞内の物質輸送に関与するキネシン、そして精子の鞭毛や気管の繊毛の運動を作り出すダイニンです。タンパク質モーターは、ATPから供給されるエネルギーを使ってタンパク質フィラメント(アクチンや微小管)との間で滑り運動します。

**注2. ダイニン:**

タンパク質モーターの一つ。鞭毛・繊毛を動かしているダイニンがよく知られています。他に、細胞内の様々な物質の輸送を行なっているダイニンがあります。重鎖の分子量は500kDaほどで、巨大なタンパク質モーターです。私たちは、このダイニンがナノメートルという微小なサイズにもかかわらず、外界からの力学的な負荷を感知し、発生する力や移動距離を自ら調整するインテリジェンスな機能を一分子の中に持つことを明らかにしています。

**注3. 単粒子解析:**

電子顕微鏡によって様々な方向を向いたタンパク質分子が観察されます。この分子像の中から、同じ方向を向いた分子像を集め、その平均像を計算します。単粒子解析は、この平均化処理によって分子の詳細な構造を抽出する解析法です。

**注4. ATP:**

アデノシン3リン酸。細胞内で行なわれる種々の酵素反応の直接のエネルギー源として生物が用いる化学物質です。1分子のアデノシン3リン酸は、アデノシン2リン酸と無機リン酸各1分子に加水分解され、そのときに放出される化学エネルギーが細胞内のエネルギーを要する様々な反応を駆動しています。

**注5. 首振りモデル:**

ミオシンとアクチンとの滑り運動の分子機構に関して提唱された学説。ミオシン分子は酵素活性を持つ頭部と、フィラメント形成に関与する尾部とに分けられます。近年、ミオシンの立体構造が明らかになり、この頭部はさらにアクチン・ATP結合部位を持つ球状の「モータードメイン」と、棒状の「レバーアーム」という2つの部分に分けられることがわかってきました。現在では、モータードメインはアクチン分子にしっかり結合し、その上でレバーアームが突出の角度を変えて、首振り運動をすることで収縮力が発生すると考えられるようになっていきます。

**注6. ドメイン:**

タンパク質の構造は階層構造を取っています。タンパク質を構成するアミノ酸の配列を一次構造と呼びます。さらに、アミノ酸直鎖の局所領域には $\alpha$ -ヘリックスや $\beta$ -シートなどの2次構造が形成されます。さらに、この2次構造は特定の幾何学的配置を持つ簡単な組み合わせを作ります。これをモチーフと呼びます。このモチーフは通常数個集まって密な球状構造を形成します。この球状構造をドメインと呼びます。