

# 分子機械－キネシン／微小管系－の運動機能の動的制御

北海道大学 玉置 信之・亀井 敬

## 1. はじめに

われわれの体内では化学反応によって運動機能を発現する幾つかの分子機械、モータタンパク質が働いている。キネシンは最も重要なリニアモータ系タンパク質の1つで、細胞内で微小管のレールに沿ってナノサイズの物質を輸送している。もし、このようなキネシンの機能を人工の分子系に応用することができれば、望む場所の間で正確に物質を輸送することに使えるかもしれない。そのようなモータタンパク質の人工的な制御、利用の実現は、ナノテクノロジーの新しい領域を開拓することになるであろう。

キネシンの人工的な運動制御に関して望まれることは、望みのタイミング、望まれる場所でその働きをON/OFFスイッチすることである。その際、制御を命令するためのシグナルとして光を用いることは、高い時空間分解能を持った制御の実現を可能にする、最適な方法と言える。キネシンの運動機能をOFF状態からON状態へと光でスイッチすることは、ケージドATPを用いて古くから行われてきた<sup>(1)</sup>。それに対してON状態からOFF状態（完全な停止状態は達成されていない）への光によるスイッチは、比較的最近になってケージドペプチドを使って達成されている<sup>(2)</sup>。ここで用いられたペプチドはキネシンのテール領域に相当するアミノ酸配列を有し、キネシンに荷物が付いていないとき、このテール領域がキネシンの運動に対する阻害剤として働くことが知られている。このように一度だけOFFからONまたはONからOFF状態にキネシンの運動を光で制御することは実現されているが、好きなときに何度でもキネシンの運動を動的に制御する研究

は行われてこなかった。

われわれは、光刺激を使う2つの方法で、キネシンの運動機能を高速状態と低速状態の間で繰り返し制御することに成功した。

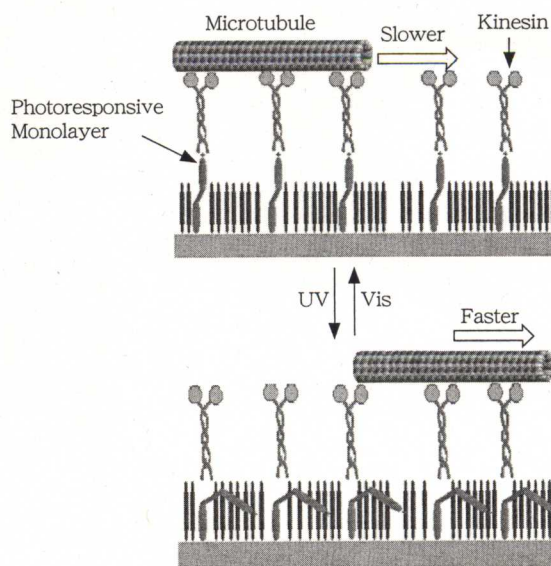


図1 キネシン/ATPに駆動される微小管の滑走速度の動的制御の模式図

## 2. 光異性化単分子膜表面によるキネシンの運動制御

細胞内では、微小管のレールの上を、荷物を持ったキネシンが移動していくが、*in vitro*の系では逆に、

キネシンを基板上に固定し、蛍光標識した微小管の移動を蛍光顕微鏡で観察して、キネシンの運動機能を評価する方法がある。光制御の方法の第一として、キネシンの下に施した光応答性単分子膜の可逆的な光異性化反応によってキネシンの運動機能を動的に変化させる可能性について検討した。キネシンを固定する基板表面に、光応答性分子として紫外線と青色光の照射により、トランス体とシス体の間を繰り返し行き来することが可能なフォトクロミック化合物、アゾベンゼンの誘導体の単分子膜を用いた。実際にアゾベンゼンの光異性化反応によってキネシンの活性を変化させるためには、アゾベンゼンの末端にアミノ基を有するリジンやアルギニン残基を設けることが重要であった。この単分子膜を使うことでキネシン/ATPによって駆動される微小管の滑走速度は、トランス体よりもシス体で約15%より高速となり、紫外線と青色光を交互に照射することで滑走速度を低速と高速の間での繰り返し変化させることができた (図4、図5)<sup>(3)(4)</sup>。

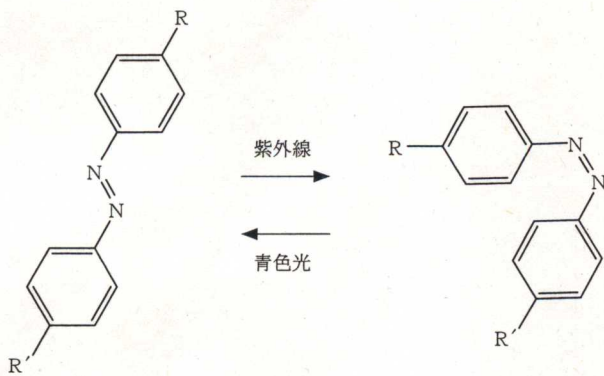


図2 アゾベンゼン誘導体の一般的な光異性化反応  
左：トランス体、右：シス体。R、R'は様々な置換基が用いられる。

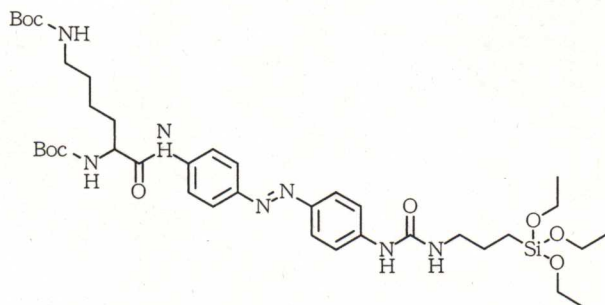


図3

光異性化反応性単分子膜を構築するための化合物の分子構造  
ガラス基板を化合物の溶液に浸漬することで、分子の右側のトリエトキシシラン部がガラス表面と反応して化学結合を形成する。その後、トリフルオロ酢酸溶液で処理することでリジン残基の保護基であるBoc基が外れて、フリーのアミノ基が最表面に現れる。蛍光顕微鏡観察用のセルは得られたガラス基板を用いて構築される。

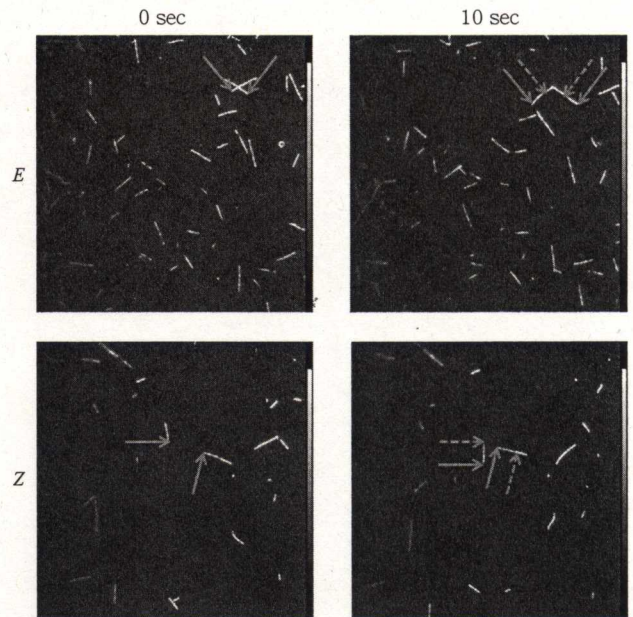


図4 蛍光顕微鏡で観察した微小管の運動の様子  
微小管は蛍光色素ローダミンによって標識されている。Eは、単分子膜中のアゾベンゼン部位がトランス状態、Zはシス状態を表す。いずれの状態でも微小管は運動するが、その速度は、トランス状態のほうが遅い。

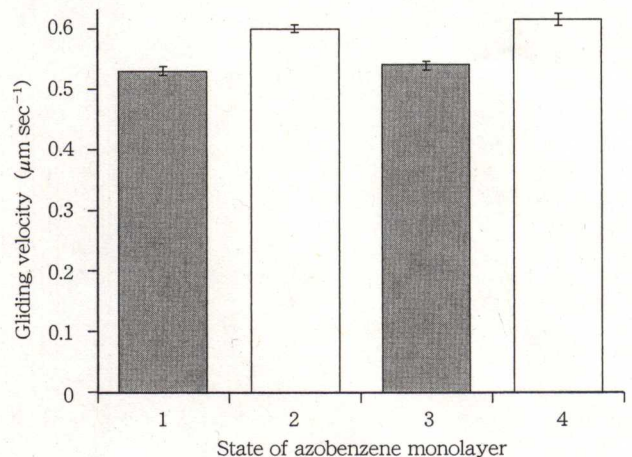


図5 微小管の滑走速度の変化  
アゾベンゼン単分子膜の状態は、1：光照射前（トランス体）、2：紫外線照射後（シス体）、3：2の状態に青色光照射後（トランス体）、4：3の状態に紫外線照射後（シス体）。

現在のところ、単分子膜の光異性化反応によって微小管の滑走速度が可逆的に変化するメカニズムは完全にはわかっていないが、滑走速度を変化させるリジン残基やアルギニン残基を有する単分子膜上ではキネシンのATP加水分解速度が、光異性化反応により可逆的に変化することが、生成する無機りん酸の定量実験からわかっている。

### 3. 光異性化ATP誘導体によるキネシンの運動制御

もう1つの方法は、光応答性ATP誘導体を用いる方法である<sup>(6)</sup>。われわれは、キネシン駆動のエネルギー源であるATPを光応答性にする事で、キネシンによる取り込み速度または加水分解速度を光で可逆的に制御して、結果的にキネシンによる運動機能を光で制御することを考えた。合成した化合物の構造を図6に示す。このリボース部位に

-ターシャルブチルアゾベンゼンを導入したATP誘導体は、キネシンの基質として働き、ATPの約20%程度の速度で、微小管を滑走させる能力が見られた(図7)。また、その速度は、ATPアゾベンゼン誘導体がシス体の時のほうがトランス体の時よりも早く、紫外線と可視光照射によりin situで滑走速度を初期速度に対して56%程度、繰り返し制御できることがわかった。ATPと同様にキネシンの運動を起こすエネルギー源となるのであれば、ターシャルブチル基は不要であるが、トランス体とシス体の間で、観察可能なほど大きな滑走速度の変化を

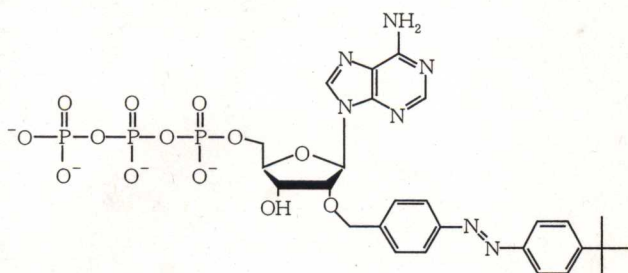


図6 p-ターシャルブチルアゾベンゼンを導入したATP誘導体

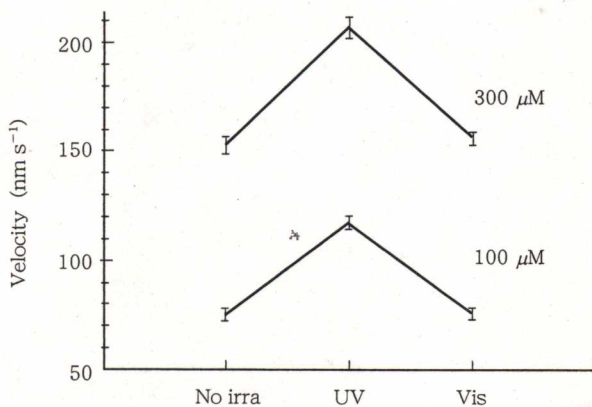


図7 光照射前後における微小管の滑走速度の変化  
No irra: 光照射前, UV: 366 nm光照射後, Vis: 436 nm光照射後。ATP誘導体の濃度を図中に記載。

実現するためには、疎水性基であるターシャルブチル基の導入が必要であった。

### 4. おわりに

まとめると、キネシンが働く基板表面、もしくはATPへ光応答性のアゾベンゼン基を導入することにより、キネシンが行う運動機能を動的に繰り返し光制御できることがわかった。これまでの結果では、物質輸送を完全に制御できるだけ大きな速度差を得るには至っていない。理想的には、ON状態では、通常のキネシン-微小管-ATPの系と変わらない運動速度が得られ、OFFの状態では運動を完全に止めることが望まれる。また、本系を微小管以外のナノ物質の移動に応用することを考えた場合、微小管とナノ物質を可逆的に結合する必要もある。これらが実現できれば、光を望まれる流路のパターン状に与えることで、物質を望みの場所に運ぶことができ、また、次の瞬間に流路を変化させることも可能であろう。まだまだ解決しなければならない課題は多いが、今回の成果は、生体の分子機械を利用してナノメートルサイズの物質を高い時空間空間分解能で取り扱う、新たなナノテクノロジーへの応用の第一歩として期待できる。

#### <参考文献>

- (1) H. Higuchi, E. Muto, Y. Inoue, T. Yanagida : *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 94, 4395 (1997)
- (2) A. Nomura, T. Q. P. Uyeda, N. Yumoto, Y. Tatsu : *Chem. Commun.*, 3588 (2006)
- (3) M. K. A. Rahim, T. Fukaminato, T. Kamei, N. Tamaoki : *Langmuir*, 27, 10347 (2011)
- (4) M. K. A. Rahim, T. Kamei, N. Tamaoki : *Org. Biomol. Chem.*, DOI : 10.1039/c2ob07167c (2012)
- (5) T. Kamei, T. Fukaminato, N. Tamaoki : submitted.

#### 【筆者紹介】

##### 玉置信之

北海道大学 電子科学研究所 スマート分子材料研究分野  
教授  
〒001-0020 札幌市北区北20条西10丁目  
TEL : 011-706-9356 FAX : 011-706-9357  
E-mail : tamaoki@es.hokudai.ac.jp

##### 亀井 敬

北海道大学 電子科学研究所 スマート分子材料研究分野  
助教  
〒001-0020 札幌市北区北20条西10丁目  
TEL : 011-706-9348 FAX : 011-706-9357  
E-mail : kamei-takashi@es.hokudai.ac.jp