



ATP 加水分解過程でのミオシンの構造ダイナミクス

杉本 泰伸¹、藤原 悟²、丸田 晋策³、荒田 敏昭⁴

1 名古屋大学、2 量子科学技術研究開発機構、3 創価大学、4 大阪市立大学

キーワード：ミオシン S1, X 線小角散乱, ATP 加水分解, 構造揺らぎ

1. 背景と研究目的

モーター蛋白質であるミオシンは、ATP 加水分解のエネルギーを用いてアクチン繊維上を一方方向に動く。ATP 加水分解によりミオシン頭部は様々な中間状態を取り、この間に、力発生と関係するとされている構造変化が起こることが検出されている。一方、ミオシン頭部の「柔らかさ」により、自身が大きな熱揺動を起こすことが知られており、力発生機構解明には、この熱揺動による構造のゆらぎがどのような役割を果たすかを明らかにすることが必要である。

我々は、ミオシン頭部の ATP 加水分解過程の様々な中間状態において、静的な構造と動的な構造揺らぎがどのように力発生機構に寄与するかを明らかにするために、X 線小角散乱、中性子準弾性散乱、動的散乱という異なった手法の系統的な実験を行い、その結果を統一的に解析することにより、ミオシン頭部の構造とその揺らぎの関係を明らかにしようとする研究を進めている。本研究では、この一連の実験の一環として、種々の中間状態におけるミオシン頭部の X 線小角散乱測定を行った。

2. 実験内容

ウサギ骨格筋からミオシン頭部 S1 を精製し、ヌクレオチドの結合していない apo 状態、ATP 結合状態に対応する ATP アナログ AMPPNP を結合した S1-AMPPNP、ATP 加水分解の中間状態に対応する S1-ADP-AIF₄、そして加水分解された後の S1-ADP のそれぞれの溶液試料を調製した。これらの試料の X 線小角散乱実験を 20°C において実施した。

3. 結果および考察

Fig.1 に、それぞれの状態の X 線小角散乱曲線の例を示す。Q = ~3 nm⁻¹ までの散乱曲線を取得することができた。散乱曲線には、Q ~ 0.8 nm⁻¹ 及び ~2.0 nm⁻¹ の領域に broad なピークが観測されるが、これらの位置及び高さが状態によって異なっていることがわかる。これは ATP 加水分解過程で構造変化が起こることを示しており、先行研究[1]と一致している。X 線小角散乱による構造モデルは、中性子準弾性散乱によるダイナミクス解析に使用されるため、本実験により解析に耐えうるデータが得られることが示されたことは重要である。但し、ギニエ解析による慣性半径が若干大きいこと、会合を示唆する曲線も一部見られることから、蛋白質濃度依存性を含め、現在、慎重に解析を進めている。

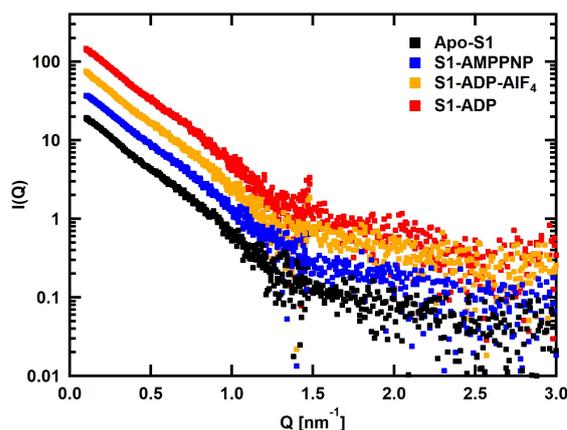


Figure 1. 種々の ATP 加水分解中間状態におけるミオシン S1 の X 線小角散乱曲線

4. 参考文献

1. Wakabayashi et al., Science 258 (1992) 443-447.