

# A torque component present in mitotic kinesin Eg5 revealed by three-dimensional tracking

細胞分裂に関与する分子モーター「Eg5」による微小管のコークスクリュー様の運動が3次元を追跡する新しい顕微鏡により明らかになる。

*Nature Structural & Molecular Biology*. **15**(10): 1119-1121.

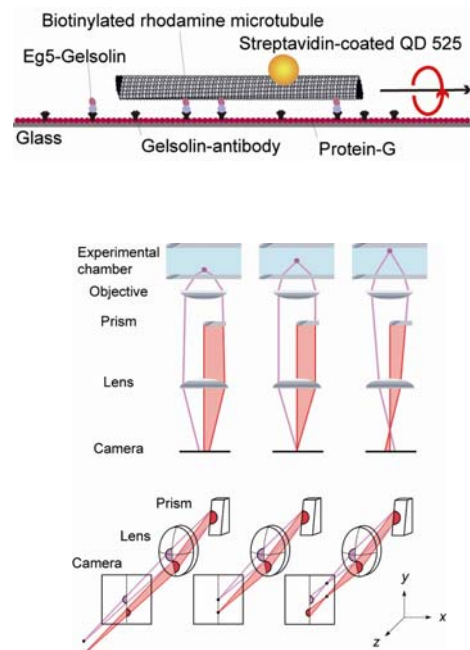
Junichiro Yajima, Kana Mizutani & Takayuki Nishizaka

## 1)はじめに

細胞が分裂して2つに増殖する際に染色体の分配のため紡錘体と呼ばれる構造を形成します。キネシン様モータータンパク質Eg5はその構造体の支柱となる紡錘体微小管を形成するのに必須で、Eg5の機能が阻害されると細胞分裂が中断してしまう重要な分子モーターです。Eg5はホモ4量体を形成し、ATPの加水分解のエネルギーを利用して反並行の位置にある微小管をスライドさせる力を発生し、紡錘体を正常に形成します。この仕組みの理解には、Eg5が引き起こす微小管のふるまいを3次元空間で詳細に調べる必要がありますが、通常の顕微鏡では2次元平面での振る舞いしか観察することができません。そこで微小管に結合した微小なナノクリスタルを3次元で観察できる顕微鏡を開発し(特許申請中)、今回3次元空間でEg5によって駆動される微小管の運動を動画として捉えることに成功しました。

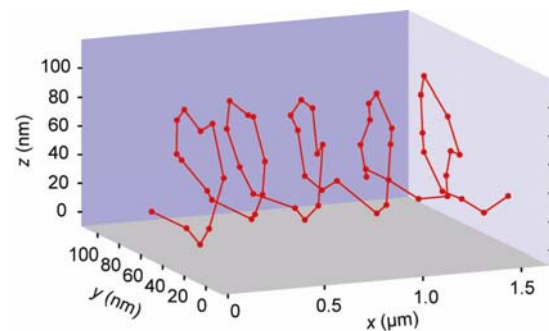
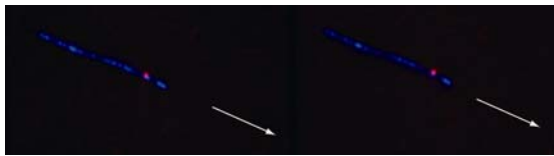
## 2)実験方法

生体内でEg5は4量体ですが、人工的に1量体と2量体のEg5を作製し、それぞれをガラスに吸着させました。そしてナノクリスタルという微小な目印(quantum dot、以下 QD と表示)を微小管につけ、微小管が滑る様子を立体的に観察しました(右上の *in vitro* 滑り回転運動系の模式図参照)。普通の光学顕微鏡では立体的な動きは検出できないため、ニコン社の協力を得て、研究室で開発した3次元位置検出顕微鏡(特許出願)が観察に使われました。実際には微小管に結合した QD の像を、顕微鏡内に挿入したプリズムにより2つに分割し、この2枚の画像から、従来では得ることができなかった高さ(z)の位置情報を得ました(右下の光学系の図参照)。



### 3) 結果と考察

複数の1量体Eg5の協同作業により微小管を並進運動させたとき、微小管に結合したQDは左巻きの螺旋を描き、Eg5によって微小管が左巻きコークスクリューのように運動し、回転する力(トルク)を発生することが明らかになりました。この回転のピッチ(微小管がその長軸の周りを1回転するのに要する並進の距離)は約300ナノメートルでした。この値は細胞内で小胞などの輸送にかかわる他のキネシン(kinesin-1)の1量体により駆動されるピッチと同等でありました。一方、2量体のEg5分子による微小管の回転運動のピッチは約2マイクロメートルで、1量体Eg5とは大きく異なりましたが、2量体 kinesin-1 による約6マイクロメートルのピッチよりは短い値でした。これらの相違は分子モーターキネシンの運動連続性(1分子で微小管上を並進移動できる性質)の程度の差から生じるものと考えられます。



(左写真)ガラスの上に敷き詰められた1量体の分子モーターEg5が QD(写真内ではピンクの点)を結合した微小管(青)を矢印の方向に滑り運動させつつ回転運動させている様子。

(右図、3次元プロット)プリズムで分割した左の写真のような2枚の画像から、Eg5により駆動される微小管の運動を3次元で観察することに初めて成功。微小管の進む x 軸の1目盛りは 500 ナノメートルですが、y、z 軸の1目盛りはわずか 20 ナノメートルです。

### 4) まとめと展望

上述のように、独自に顕微鏡を開発し、微小管の振る舞いを3次元で観察することによりEg5による微小管のきりもみ状(コークスクリュー様)の動きを世界で初めてみる事ができました。分子モーターによる回転のピッチは1量体と2量体で異なり、分子モーターの新しい性質が明らかになりました。この回転方向の力(トルク)を発生する仕組みはまだ謎ですが、分子モーターは状況に応じて微小管を直進させたり回転させたり出力を変調できる可能性があり、人工輸送ナノマシンの設計などへの工学的な応用が考えられます。またEg5は抗がん剤のターゲット分子としても注目されており、この分子の運動メカニズムの解明は医療への応用に広く貢献する可能性があります。