

分子モーターキネシンの交通流

東京大学 工学系研究科 西成 活裕

University of Tokyo, Faculty of Engineering
Katsuhiko Nishinari

1 はじめに

車や人に見られる渋滞現象は、自分自身で動くことのできる「自己駆動」粒子系が示す集団現象と考えることができる。このような立場で近年、渋滞現象を普遍的に研究する分野が誕生してきた。そしてこの渋滞は生体内でも起こり、これは最近の自己駆動粒子系の活発な研究対象になっている。本論文では、分子モーターである「キネシン」に焦点をあて、その微小管上での動きとその渋滞について考えてゆこう。

生体の神経細胞内でのミトコンドリアや小胞などの輸送は、分子モーターにより能動的に行なわれていることが近年分かってきた。それは微小管と呼ばれる道の上をキネシンやダイニンが加水分解のエネルギーで自ら方向性を持って動いてゆくものである。この能動輸送のメカニズムは大変興味深く、これまで様々な研究がなされてきた [1]。また、分子モーターの不調により輸送が滞ると、それが様々な病気を引き起こすことも明らかになってきた。例えば、ある種の神経疾患やアルツハイマー病などである [2]。したがって分子モーターの挙動を理解することは大変重要であり、これまで主に 1 分子がどのように前進するかの実験的研究が行なわれてきた [3, 4, 5]。分子モーターの中で人体のキネシンは 40 種類以上あり、その生化学的メカニズムも様々な異なり、すべてが解明されているわけではない。特に多分子が微小管上を動く際の集団現象には様々な未解決問題がある。今回は、比較的新しい単頭キネシンである KIF1A に焦点を当ててそのモデルを作成し、実験との比較や集団現象を考察する。

これまでのキネシンのモデルはいくつか提案されてきているが、それらはすべて ASEP (非対称単純排除過程) [6] にラングミュア運動を取り入れただけの単純なものであり [7, 8, 9, 10]、決して現実の生物の動きと比べられるものではない。特に加水分解を全く考慮しておらず、実験との比較なども不可能である。分子モーターは実際酵素であり、その運動は生化学的サイクルによって決まっている。そして、単頭キネシンはブラウニアンラチェット機構で動くとも考えられており、これらを考慮したモデルが必要である。そこで、加水分解等を考慮したモデルを近年筆者らは提案した [11]。そして、モデルにあるパラメーターを全て実験より曖昧なく見積もることができることを示し、またキネシンの渋滞の様子を実験とシミュレーションにより調べた。ここでは、そのモデルとパラメータ推定方法の詳細、また数値シミュレーション結果と実験の総合比較をおこなう。

2 単頭キネシン KIF1A のモデル

それではまずキネシンのモデルを説明しよう。微小管はプロトフィラメントの束からなり、その 1 本のプロトフィラメントは $\alpha\beta$ チュブリンといわれる単位タンパクが格子状に重合して出来

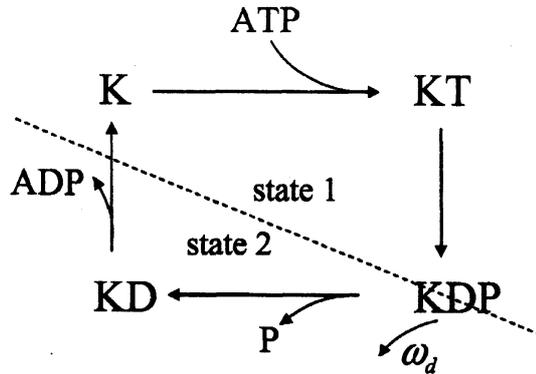


図 1: A biochemical cycle of a single KIF1A motor. They are divided into two mechanical states as shown by the broken lines.

ている。そしてキネシンはその上をマイナス端からプラス端の極性の方向に能動的に動いてゆく。このため、まず1本のプロトフィラメントをLサイトの1次元格子でモデル化する。その1格子はチューブリン1つ分に相当し、その長さは8 nmである。キネシンは加水分解サイクルの間に生化学的に4つの状態をとる。それはキネシン単独状態(K)、ATP結合状態(KT)、加水分解後のADPとリン酸が結合した状態(KDP)、そしてリン酸を放出したADP結合状態(KD)である(図2)。ここで、キネシンのメカニカルな状態に注目すると、KとKT状態は微小管に固定されており、全く動かないが、KDの状態では微小管上をブラウン運動できる。したがって、メカニカルな視点からはキネシンは微小管上で固定状態(これを状態1とする)か、ブラウン運動状態(これを状態2とする)の2つの状態に区別される。そして、実験で確認されたことであるが、キネシンは状態1から状態2への遷移、つまりリン酸を放出する際にその反作用で微小管から離れやすくなるという性質があるということである[12]。この微小管からの離脱はこのとき以外には起こりにくい。そして逆に微小管への付着はサイトが空いていればいつでも可能である。したがって、以上からキネシンの運動は3状態確率CAモデルによってモデル化それは、あるサイトに何もいない(0)、状態1のキネシン(1)、状態2のキネシン(2)である。

時間はランダム更新とし、時間間隔を dt とおくと時間発展ルールとその確率については以下のようなになる。

$$\text{付着: } 0 \rightarrow 1 \text{ with } \omega_a dt \quad (1)$$

$$\text{離脱: } 1 \rightarrow 0 \text{ with } \omega_d dt \quad (2)$$

$$\text{加水分解: } 1 \rightarrow 2 \text{ with } \omega_h dt \quad (3)$$

$$\text{ラチェット: } \begin{cases} 2 \rightarrow 1 \text{ with } \omega_s dt \\ 20 \rightarrow 01 \text{ with } \omega_f dt \end{cases} \quad (4)$$

$$\text{ブラウン運動: } \begin{cases} 20 \rightarrow 02 \text{ with } \omega_b dt \\ 02 \rightarrow 20 \text{ with } \omega_b dt \end{cases} \quad (5)$$

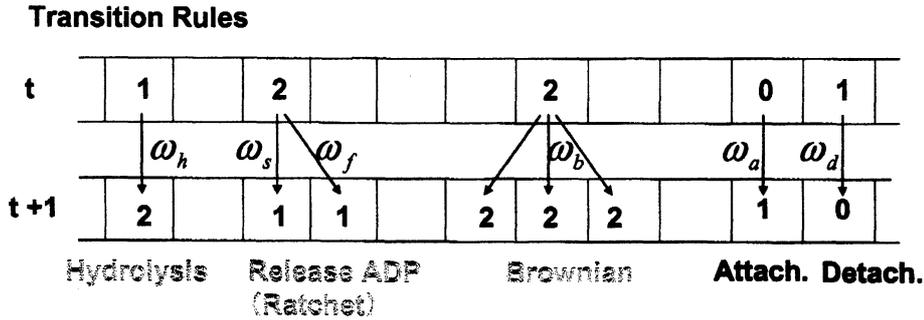


図 2: Transition rules of the model. There are three states 0, 1 and 2, and the transitions among them at a time step are given by these rules.

ここで、 ω_a などはそれぞれのプロセスの起こるレートを表している。これをまとめたのが図2である。

微小管の両端はたんぱく質の構造がバルク部分と異なっていることが知られており、その離脱確率などはバルクのもの異なる。したがってバルクの付着率 ω_a の代わりに左端で α 、右端で δ とする。同様にバルク離脱率 ω_d の代わりに左端で γ_1 、右端で β_1 とする。そして、ブラウン運動レート ω_b についても、左端では γ_2 、右端では β_2 とおく。ここで添え字1, 2はその状態のキネシンを意味しており、離脱は状態1のみ、ブラウン運動は状態2のみで起こる。また付着後は必ず状態1になっているので添え字は省略する。ここで、重要なことは ω_f と ω_s の比がブラウニアンラチェットから決まる、ということである。レート ω_f で前進し、 ω_s がラチェット機構が動かずにその場にとどまる割合を表している [11]。以上のルールを、平均場近似したマスター方程式で書き下しておこう。時刻 t において、サイト i に状態1および2のキネシンを見出す確率をそれぞれ r_i 、 h_i とおくと、以下のように表される。

$$\frac{dr_i}{dt} = \omega_a(1 - r_i - h_i) - \omega_h r_i - \omega_d r_i + \omega_s h_i + \omega_f h_{i-1}(1 - r_i - h_i), \quad (6)$$

$$\begin{aligned} \frac{dh_i}{dt} = & -\omega_s h_i + \omega_h r_i - \omega_f h_i(1 - r_{i+1} - h_{i+1}) \\ & -\omega_b h_i(2 - r_{i+1} - h_{i+1} - r_{i-1} - h_{i-1}) + \omega_b(h_{i-1} + h_{i+1})(1 - r_i - h_i). \end{aligned} \quad (7)$$

3 パラメーターの決定とシミュレーション、および実験

このモデルに含まれるパラメーターはすべてこれまでの実験結果から見積もることができる。これはこのモデルの大きな特徴であり、曖昧な fitting parameters は無いため、実験と直接結果を比較することが出来る。まず、ラチェットの実験結果より $\omega_f/\omega_s \approx 3/8$ が分かっており、さらに1分子実験でのADPリリースレートから $\omega_s + \omega_f \approx 0.2 \text{ ms}^{-1}$ 、がいえる。そこでまず $\omega_s \approx 0.145 \text{ ms}^{-1}$ and $\omega_f \approx 0.055 \text{ ms}^{-1}$ とレートを見積もる事ができる。また離脱レートは $\omega_d \approx 0.0001 \text{ ms}^{-1}$ となり、これはキネシン濃度によらない。また付着率は、キネシン濃度を C モルをすると、 $\omega_a = 10^7 C/\text{M}\cdot\text{s}$ と表すことができる。典型的な生体内でのキネシン濃度 C は10から1000 nMであるため、 ω_a の

許容範囲は $0.0001 \text{ ms}^{-1} \leq \omega_a \leq 0.01 \text{ ms}^{-1}$ と見積もれる。また、ミカエリス=メンテンの酵素反応式より、ATP濃度を T とすると $\omega_h^{-1} \simeq (4 + 0.9/T) \text{ ms}$ となる。したがって、 ω_h の範囲も $0 \leq \omega_h \leq 0.25 \text{ ms}^{-1}$ となる。最後に ω_b^{-1} であるが、これも実験より $\omega_b \simeq 1.125 \text{ ms}^{-1}$ となる。

つぎにシミュレーション結果を示そう。実験的にも容易にコントロール可能なものは ω_a, ω_h であるため、このモデルでもこれらを2次的に変化させて図を描いたものが(図3)である。

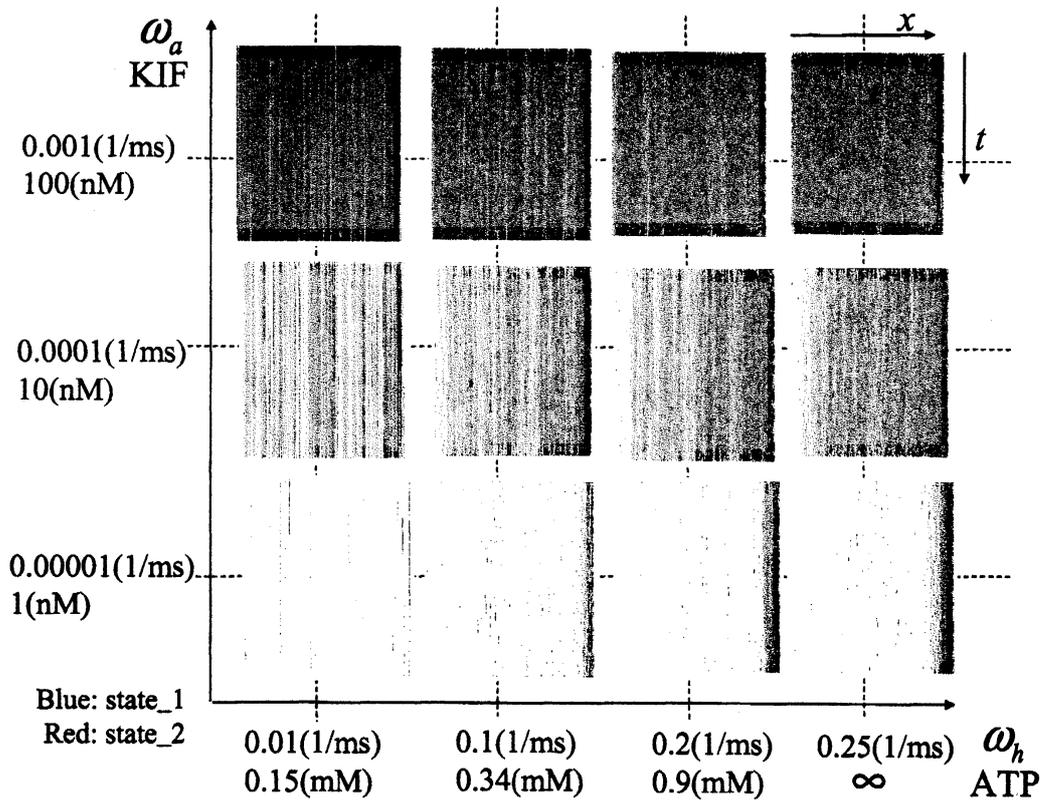


図3: Diagram of the model in the $\omega_h - \omega_a$ plane, with the corresponding values for ATP and KIF1A concentrations given in brackets. The boundary rates are $\alpha = \omega_a, \beta_{1,2} = \omega_a, \gamma_{1,2} = \delta = 0$. We see the formation of the immobile shock, whose position depends on both ATP and KIF1A concentrations.

これより、ATP濃度が上がるかキネシン濃度が上がれば微小管の出口を先頭に渋滞を起こしていることが分かる。これは車とのアナロジーで言えば、それぞれガソリンを大量にもらって動きやすくなっている状態と、車が多い状態に相当する。そして興味深いのは、ある場合には渋滞領域と自由に動いている領域の境界がはっきりと見えていることである。これは衝撃波あるいはドメインウォールと言われ、自由流と渋滞流がここで相変化を起こしている。またその位置は数値計算によれば時間的な変化は無く、一度出来れば同じ位置に留まっている。そして形成位置はATP濃度が上がるかキネシン濃度が上がると入り口側にシフトすることも分かる。

最後に実験によりこのようなドメインウォールが見えるかどうか確認する。図4がその結果で、

見やすくするために微小管とキネシンを分離して書いてある。上の細いラインが微小管であり、その下の斑点の集まりがキネシンである。図は3種類の実験結果で、上から下に向かってキネシンの濃度を増加させている。これにより、キネシン量を多くすれば渋滞することが確認でき、また真ん中の図から適当な条件のもとではキネシンのドメインウォールらしきものが確認できる。

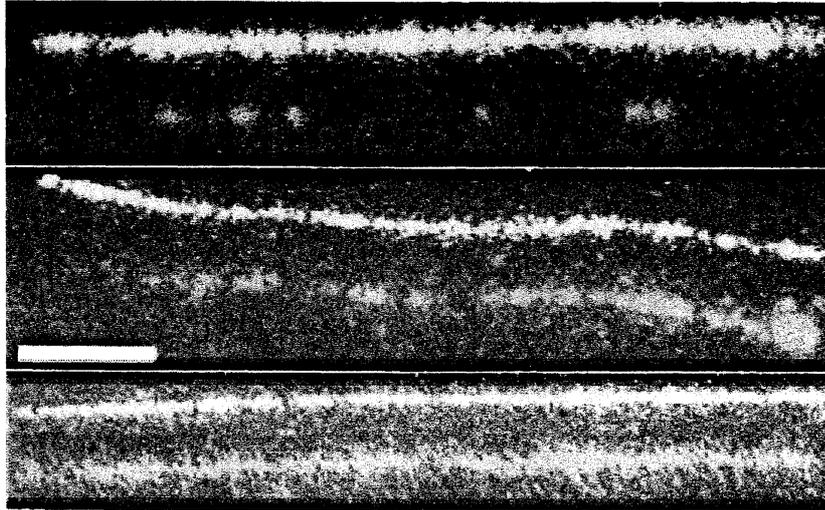


図 4: Formation of comet-like accumulation of kinesin at the end of MT. Fluorescently labeled KIF1A (red) was introduced to MT (green) at 10 pM (top), 100 pM (middle) and 1000 pM (bottom) concentrations along with 2 mM ATP. The length of the white bar is $2\mu\text{m}$.

4 ドメインウォールの位置について

マスター方程式 (6),(7) の連続極限を考える。そのために次のような展開をする。

$$h_{i-1} = h - \frac{1}{L}h_x + \dots \quad (8)$$

また、時間を $\tau = t/L$ のようにスケールし直せば、連続化されたマスター方程式は

$$\frac{1}{\omega_f}r_\tau = (r+h-1)h_x - Lh(r+h) + c_1 - c_2r + (c_4 - c_1)h, \quad (9)$$

$$\frac{1}{\omega_f}h_\tau = hr_x + hh_x + Lh(r+h) + c_3r - c_4h \quad (10)$$

となる。ここで $c_1 = \omega_a L/\omega_f$, $c_2 = (\omega_a + \omega_d + \omega_h)L/\omega_f$, $c_3 = \omega_h L/\omega_f$, $c_4 = (\omega_b + \omega_f)L/\omega_f$ とおいた。定常状態では時間微分を落とすことにより

$$r_x = c_4 - c_3 \frac{r}{h} - L(r+h) - h_x, \quad (11)$$

$$h_x = \frac{-Lh(r+h) + c_1 - c_2r + (c_4 - c_1)h}{1 - r - h}. \quad (12)$$

が得られる。次にこれの式の境界条件を求めよう。それは極限をとる前のつりあい式から得られる。まず、入り口側であるが、定常状態で

$$\alpha(1 - r_1 - h_1) = \omega_f h_1(1 - r_2 - h_2) \quad (13)$$

$$\omega_f h_{L-1}(1 - r_L - h_L) = \beta(r_L + h_L) \quad (14)$$

となる。また連続極限では $r_2 = r_1$ とおいて

$$r(0) = \frac{\alpha - \alpha(\alpha - \omega_s)/\omega_f}{\alpha + \omega_h}, \quad (15)$$

$$h(0) = \frac{\alpha}{\omega_f}. \quad (16)$$

が得られる。同様に考えて出口側、つまり $x = 1$ では

$$r(1) = \frac{\omega_s + \beta}{\omega_h + \omega_s} \left(1 - \frac{\beta}{\omega_f} \frac{\omega_h + \omega_s}{\omega_h - \beta}\right), \quad (17)$$

$$h(1) = \frac{\omega_h - \beta}{\omega_h + \omega_s} - \frac{\beta}{\omega_f}. \quad (18)$$

となることが分かる。ここで、(11) と (12) を境界条件 (15) と (16) を用いて入り口から、また、境界条件 (17) と (18) を用いて出口から積分する。この積分曲線は一般にスムーズにつながらず、それが衝撃波の位置を与える。左右の積分曲線の接続条件は流量が一致することであり、流量は左側を $J_l = \omega_f h_l(1 - r_l - h_l)$ 、また右側を $J_r = \omega_f h_r(1 - r_r - h_r)$ とおけば、条件 $J_l = J_r$ が満たされる位置である。これを数値的に調べた結果が図5である。これは $\omega_a = 0.00005$ 、 $\omega_h = 0.2$ とした結果で、左右からの積分によって流量を求め、図の位置で流量を一致させて交わることが分かる。その結果、 r と h の分布も求められる。同様な手続きを他のパラメータについて行なったもの

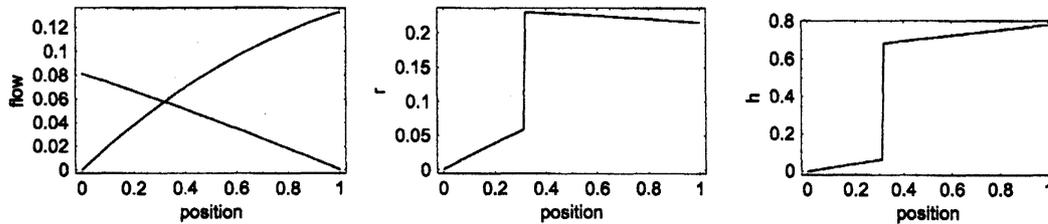


図5: The flow calculated from the left and right coincides at $x = 0.318$ (left). The corresponding density profile for r (middle) and h (right).

が表1である。これは完全には数値計算の結果と合わないが、ATP濃度やキネシン濃度の依存性などの定性的性質は捉えることが出来ているのが分かる。今後はこの解析を精密化していくことが課題である。

参考文献

- [1] M. Schliwa (ed.), *Molecular Motors*, (Wiley-VCH, 2002).

	$\omega_a=0.00001$	$\omega_a=0.000025$	$\omega_a=0.00005$	$\omega_a=0.000065$
$\omega_h=0.2$	0.725	0.5	0.318	0.253
$\omega_h=0.15$	0.776	0.571	0.382	0.311
$\omega_h=0.125$	0.808	0.618	0.425	0.35

表 1: The position of the standing shock. Parameters are $L = 600$, $\omega_d = \beta = 0.0001$, $\alpha = \omega_a$, $\omega_f = 0.145$ and $\omega_s = 0.055$.

- [2] N. Hirokawa and R. Takemura, Trends in Biochem. Sci. **28**, 558 (2003).
- [3] Y. Okada and N. Hirokawa, Science **283**, 1152 (1999).
- [4] Y. Okada and N. Hirokawa, Proc. Natl. Acad.Sci. USA **97**, 640 (2000).
- [5] Y. Okada, H. Higuchi, and N. Hirokawa, Nature, **424**, 574 (2003).
- [6] G.M. Schütz, in C. Domb and J.L. Lebowitz (eds.), *Phase Transitions and Critical Phenomena*, Vol. 19 (Academic Press, 2001).
- [7] A. Parmeggiani, T. Franosch, and E. Frey, Phys. Rev. Lett. **90**, 086601 (2003).
- [8] M.R. Evans, R. Juhász, and L. Santen, Phys. Rev. E **68**, 026117 (2003).
- [9] V. Popkov, A. Rakos, R.D. Williams, A.B. Kolomeisky, and G.M. Schütz, Phys. Rev. E **67**, 066117 (2003).
- [10] R. Lipowsky, S. Klumpp, and T. M. Nieuwenhuizen, Phys. Rev. Lett. **87**, 108101 (2001).
- [11] K. Nishinari, Y. Okada, A. Schadschneider and D. Chowdhury, Phys. Rev. Lett. **95**, 118101 (2005).
- [12] R. Nitta, M. Kikkawa, Y. Okada, and N. Hirokawa, Science **305**, 678 (2004).