

2分子を連結させたキネシン複合体の協調的運動の観察

(東京大学大学院工学系研究科) 富重 道雄

【はじめに】

キネシンは2量体を形成して微小管上を連続運動する分子モーターである。細胞内では、キネシン1分子が単独で荷物を輸送するのではなく、複数の分子が協調することで輸送効率を高めていると考えられている。このような複数分子間の協調性を調べるための最も単純な実験系として、2分子のキネシンを架橋した複合体を構築し、さらにその運動を一分子の運動と比較することによって、2分子間の協調性を調べた。

【結果と考察】

免疫抑制剤であるラパマイシンによって誘導されるFKBPとFRBの架橋反応を利用することによって、2つのキネシン分子を特異的にクロスリンクした「2分子キネシン」を作成した。それぞれの分子を区別するために、クロスリンク反応を行う前にあらかじめ異なる色素で蛍光標識を行った。全反射蛍光顕微鏡による1分子観察法を用いて、蛍光標識された2分子キネシンの運動を観察し、クロスリンクされていない1分子キネシンと比較したところ、運動速度はほぼ同じであったが、微小管に結合してから離れるまでの移動距離は1.5倍程度上昇した。これらの結果は、架橋された2分子は互いの運動を抑制することなく、何らかの仕組みで協調していることを示唆するものである。



2分子キネシンの実験系を応用して、運動中のキネシンに負荷をかけ、そのときの内部構造状態を観察した。キネシン2量体の尾部に、微小管に結合した後解離することのできない変異体キネシン頭部を融合したキネシンを作成し、その運動を蛍光一分子イメージング法を用いて観察したところ、一部のキネシンは野生型と同じ速度で運動したものの、大部分のキネシンは見かけ上停止して微小管上に固定された。次にこのコンストラクトの野生型頭部をFRETプローブで標識し、一分子FRET法により負荷存在下でのキネシンの構造変化の検出を行った。飽和ATP濃度条件下で観察したところ、主に片足結合状態を取っていることが分かった。これらの結果は片足結合状態から両足結合状態への遷移が強い負荷依存性を持つことを示すものである。

【参考文献】

- (1) T. Mori, R. D. Vale, and M. Tomishige. How kinesin waits between steps. *Nature* 450, 750-754 (2007).
- (2) A. Yildiz, M. Tomishige, A. Gennerich, and R. D. Vale. Intramolecular strain coordinates kinesin stepping behavior along microtubules. *Cell* 134, 1030-1041 (2008).