

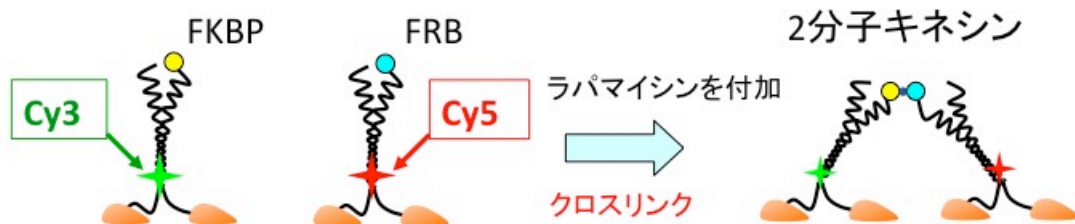
輸送分子モーターを連結したシステムの一分子観察

東京大学大学院工学系研究科・准教授 富重 道雄

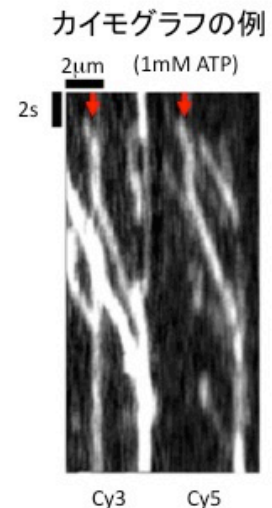
分子モータータンパク質キネシンが多分子で輸送を行うときの分子間協調性の仕組みをしらべるために、2分子のキネシンを連結させた複合体を人工的に作製した。連結した場合としていない場合における運動能の比較を行ったところ、二分子の連結によって運動速度はあまり変化しないが、連続的に移動できる距離が伸びることが示された。これらの結果は、連結された分子は互いの運動を阻害することなく、何らかの形で協調することによって長距離輸送を可能にしているということを示すものである。

1. 二分子を連結させたキネシン複合体の運動観察

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ることにした。



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 (FRAPのラパマイシン結合部位)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、蛍光色素で標識された2種類のキネシン分子を同時観察したところ、およそ10%程度の分子がクロスリンクされていることを確認した。これら2分子キネシンの運動を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

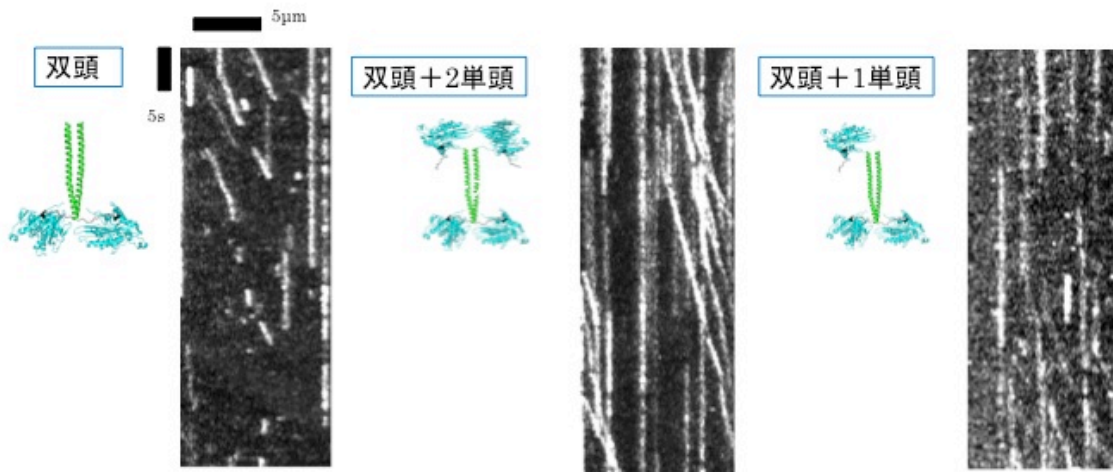


らの結果は、架橋された2分子は互いの運動を抑制することなく、何らかの仕組みで協調していることを示唆するものである。

2. 単頭と双頭のキネシンによる協調的運動

細胞内輸送に関わるキネシンは主に二量体を形成している。双頭のキネシンが1分子で連続運動するのに対し、単頭のキネシンは1分子では連続的に運動することができない。このような連続的運動能を持たない単頭キネシンが双頭キネシンと協調した場合に、双頭キネシンによる運動にどのような影響を与えるのかを調べた。具体的には、遺伝子組み換え技術を用いてキネシンの単頭を双頭キネシンに直接連結させた変異体キネシンを作製し、双頭キネシンに1つの単頭を連結した場合と2つの単頭を連結した場合とで運動の違いをしらべた。

双頭キネシンに1つの単頭をつなげたキネシンは、双頭キネシンに比べて微小管上に停止する分子の割合が上昇し、また運動を示す分子の運動速度は低下した。それに対して、双頭に単頭を2つつなげたキネシンは、1つの場合よりも運動している分子の割合が低下したものの、運動している分子が連続的に移動した距離は双頭キネシンの2倍に上昇した。これらの結果は、双頭キネシンに単頭を1つだけつなげた場合は速度を低下させる負の効果しかないが、2つつなげた場合には微小管からの解離を抑えるプラスの効果が生まれて複合体として長距離輸送を行うことが可能になるということを示すものである。



<参考文献>

- [1] T. Mori, R. D. Vale, and M. Tomishige. *Nature* 450, 750-754 (2007).
- [2] A. Yildiz, M. Tomishige, A. Gennerich, and R. D. Vale. *Cell* 134, 1030-1041 (2008).