

# 一分子計測技術で歩くタンパク質分子を見る

キネシンは、生体細胞内で物質輸送など様々な「動き」を司るタンパク質分子モーターの一種であり、ATP（アデノシン3リン酸）を加水分解して生じる化学エネルギーを利用して微小管に沿った一方向運動をおこなう。モーター機能をもつ「頭部」とよばれる部分はわずか数ナノメートルで、高いエネルギー変換効率をもつため、ナノアクチュエータとしての応用も期待されている。キネシンファミリーに属する分子の多くは二つの頭部をもつ二量体である。従来型のキネシンは、微小管上を1 $\mu$ mの距離を連続的に運動することができるが、このとき8nmの階段状の変位(ステップ)を繰り返して進むことが、光ピンセットを用いた一分子計測技術でわかっている。8nmは微小管を構成するチューブリン分子の間隔であることから、キネシンは二つの頭部を二本足のように交互にもちいて、チューブリンの飛び石の上を歩くようにして進むというHand-over-Handモデルが提唱され、広く信じられていた。しかしこのモデルに対する直接的な実験証拠はなく、これに反するデータも発表され、論議を呼んでいた。

この論争に決着をつけるため当研究センターでは、二つの頭部のうち一方のみを動きの遅い変異体にしたヘテロダイマーキネシン

を作成し、ヘテロダイマー1分子の微小管に沿った動きを高感度の一分子計測技術を用いて調べることにした。もしキネシンが二頭を交互に使っていれば遅い8nmステップと通常の8nmステップが交互に見えるはずだと考えたのである(図1)。まず、異なる二つのタグを利用してヘテロダイマーキネシンの作成技術を開発した。一方の頭部のATP加水分解サイクルの速さが野生型の十分の一以下であるようなヘテロダイマーを作り、1分子レベルでの運動を調べたところ、確かに、8nmステップの起こる時間間隔が長短、交互になっていたのである(図2)。この結果により、キネシン分子が二頭を交互にもちいて運動するというHand-over-Handモデルを、世界で初めて証明することができた。

近年の一分子計測技術は、単一分子の発生する力や運動をpN, nmレベルで検出することを可能にした。我々の開発したヘテロダイマー分子モーターを用いる技術により、これまで二量体である分子単位で研究されてきた力発生、運動などの性質のサブユニットレベルでの解析が進み、タンパク質分子モーターの運動機構解明と応用へとつながることを期待している。

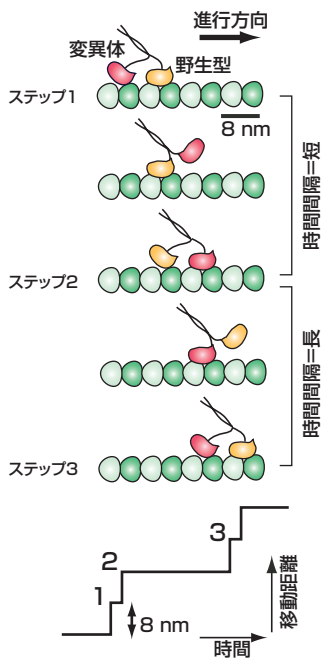


図1 ヘテロダイマーを用いた実験のアイデア

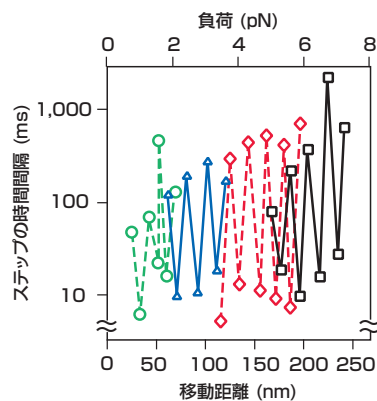
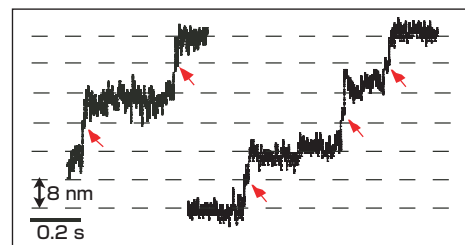


図2 単一分子の変位(上)とステップの時間間隔(下)



ひろせいこ  
 広瀬恵子  
 k.hirose@aist.go.jp  
 ジーンファンクション研究センター

関連情報

- 共同研究者: 加世田国与士 (ジーンファンクション研究センター), 樋口秀男 (東北大学) .
- K. Kaseda, H. Higuchi, K. Hirose : Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 99 (25), 16058-16063 (2002).
- K. Kaseda, H. Higuchi, K. Hirose : Nature Cell Biology, 5(12), 1079-1082 (2003).