

Title	単頭キネシン運動特性
Author(s)	井上, 裕一
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40653
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	井上裕一
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第13967号
学位授与年月日	平成10年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 基礎工学研究科物理系専攻
学位論文名	単頭キネシン運動特性
論文審査委員	(主査) 教授 柳田 敏雄 (副査) 教授 中野 馨 教授 村上富士夫

論文内容の要旨

キネシンの一方向性の運動や力発生メカニズムには、双頭構造を介した頭部間のコミュニケーションが不可欠と考えられている。これを検討するため、双頭キネシンと単頭キネシンを発現させ、これらの運動性を光ピンセットを用いたナノ計測によって調べた。

単頭キネシンとして、N末340アミノ酸配列(モータードメイン)であるK340、K340から11残基のネックを持つK351、K340に11残基のランダムコイルをつけたK340-chain、そして双頭キネシンとしてK411を発現させ、それぞれのC末のシステイン残基をビオチン化してアビジンビーズに固定した。このビーズの微小管上の動きを、光ピンセットを用いた、nm,pN計測システムによって検出した。

単頭キネシンK351は、2pN<の低負荷において最大速度 $\sim 800\text{nm/s}$ で運動し、5pN>の高負荷においては8nmを単位とするステップ状の変位がみられた。同様の結果はK411でも計測されたため、K351は双頭キネシンと同等の運動特性があることがわかった。しかし、トラップを遮断するとK351は、双頭キネシンほど連続的に運動を行うことができなかった。また、340残基まで削ると運動性が大きく損なわれたが(K340:最大速度 $< 50\text{nm/s}$, 力 $< 2\text{pN}$)、柔らかい人工アミノ酸配列を付けると運動性は回復した(K340-chain: 最大速度 $\sim 800\text{nm/s}$, 力 $> 6\text{pN}$)。

これらの結果から、双頭構造を介した頭部間のコミュニケーションは、運動を連続的に行わせることに重要であることは示唆されたが、運動の素過程には必須ではないことがわかった。また、340-351のアミノ酸配列は、硬いレバーアームとして働いているのではなく、ヘッドを繋ぐジョイントの役目をしていることがわかった。

論文審査の結果の要旨

キネシンは構造上の類似性から、タンパク質のさまざまな機能(酵素反応, 分子認識, エネルギー変換など)を集約的に持つモータータンパクの中であって、さらに代表的な特徴をもっている。本研究ではキネシンについて研究を行うことで多くのモータータンパクやタンパク一般に共通な動作原理の解明を目指し、1分子技術、遺伝子工学的手法を用いて、運動の分子メカニズムを探った成果がまとめられている。

本論文ではキネシンの運動や力発生メカニズムには、双頭構造を介した頭部間のコミュニケーションが不可欠か

どうかを検討するため、双頭キネシンと単頭キネシンを発現させ、これらの運動性を光ピンセットを用いたナノ計測によって調べている。この結果、遺伝子工学的手法を用いて作製した単頭キネシンK351は、双頭キネシンK411と同等の運動特性があることが明らかとなった。しかし、トラップを遮断するとK351は、双頭キネシンほど連続的に運動を行うことができなかつた。また、340残基まで削ると運動性が大きく損なわれたが(K340:最大速度 $<50\text{nm/s}$, 力 $<2\text{pN}$)、柔らかい人工アミノ酸配列を付けると運動性は回復した(K340-chain:最大速度 $\sim 800\text{nm/s}$, 力 $>6\text{pN}$)。これらの結果から、双頭構造を介した頭部間のコミュニケーションは、運動を連続的に行わせることに重要であることは示唆されたが、運動の素過程には必須ではないことが判明した。また、340-351のアミノ酸配列は、硬いレバーアームとして働いているのではなく、ヘッドを繋ぐジョイントの役目をしていることが明らかになった。これらの知見はモータータンパクの動作原理として従来信じられていたネックレバーモデルに対して重要な問題提起となると思われる。

さらに論文の発表においては、1分子の双頭キネシンによる運動に続いて1分子の単頭キネシンによるものと思われる運動がビデオで示された。4nm \times 4nm \times 7nmしかないキネシン頭部が1分子で8nmステップを連続的に行うという結果は、運動のメカニズムを考える上で重要な発見であると共に、タンパク間相互作用一般にも重要な情報となるであろう。したがって本論文は博士(理学)の学位論文として価値あるものと認める。