

論文審査の結果の要旨

論文提出者氏名 水野直子

細胞という生命の単位が効率よく活動するために、細胞内の物質輸送をはじめとして、細胞の移動や細胞分裂を行うことが必須である。これらの細胞運動は、細胞骨格であるアクチンフィラメントや微小管とそれぞれに特有な相互作用をするモータータンパク質の働きによるものであり、それらの分子機構を明らかにすることは、生命活動の理解にとって重要な課題である。モータータンパク質のうち、ミオシン、キネシンについては多くの研究がなされ、その分子メカニズムがかなり解明されてきた。一方、キネシンと同じ微小管のモーター分子でありながら、ダイニンは巨大で複雑な複合体であるためにその機構は未解明の部分が多い。水野直子さんは、「微小管とダイニン複合体の相互作用についての構造的考察」と題した研究課題において、ダイニンの微小管結合部位であるストークヘッドと微小管の複合体の3次元構造解析を行い、微小管上のダイニン結合部位を同定し、その部位がキネシンの結合部位と重複することを見出した。

本研究では、まず発現精製が難しいとされているダイニンのストーク部位を、大腸菌で発現し、可溶化状態のタンパク質(DSH)として精製することに成功した。DSHと微小管との結合を定量的に調べた結果、チューブリンダイマーに対して1等量結合することがわかった。さらに、微小管とDSHの複合体のクライオ電子顕微鏡観察を行い、DSHがチューブリンダイマーの周期である8 nmの周期で結合していることがわかった。この結合がnativeのダイニンの結合状態を反映していることは、結合の競合実験などから確かめられた。

この電子顕微鏡像を解析して3次元再構成像を得たところ、DSHの微小管上の結合部位がキネシンのそれと同様に、2つのチューブリンモノマーの間に位置することがわかった。本来、チューブリンダイマーのうち $\alpha$ チューブリンと $\beta$ チューブリンを構造的に区別することは困難であるが、本研究では詳細な解析を加えた3次元再構成により、2つのチューブリン間(ダイマー間とダイマー内)のうち、DSHはキネシンと同様にダイマー内のチューブリン間に結合していることを明らかにした。このことは、DSHとキネシンの結合の生化学的な競合実験によっても裏付けられた。以上より、DSHとキネシンの微小管上の結合部位が重複したものであることを明らかにした。

微小管上の DSH とキネシンの結合部位は、MAPs などモータータンパク質以外の微小管結合タンパク質の結合部位とは別の部位であり、また DSH が接している微小管上の面積は微小管表面の約 8% 程度であった。これらの結果から、ダイニンとキネシンという 2 つのモータータンパク質が運動という機能を発揮するために、今回同定したチューブリン上の特定の部位が何らかの積極的な役割を持つのではないかというモデルを提唱した。

以上のように、本研究は、巨大で複雑なダイニンという分子のタンパク質断片を利用して、ダイニンと微小管の相互作用の構造解析を行い、世界で初めてその相互作用の実像を示した。その結果、微小管上を逆方向に動くことが示されているキネシンと同じ微小管上の部位に結合していることが明らかになり、モータータンパク質の分子機構解明の構造的基盤を与えるとともに、相互作用における微小管の役割についての新たな知見を提唱することができた。したがって、本審査委員会は博士（学術）の学位を授与するにふさわしいものと認定する。