

論文審査の結果の要旨

論文提出者名 五十川 泰史

ミオシン XVIII は、巨大な「ミオシンスーパーファミリー」の中でも最も新しく同定された 18 番目のクラスに属するミオシンであり、XVIII A と XVIII B ふたつのサブクラスが存在する。ミオシン XVIII A は N 末端側から順に、リジン(K)とグルタミン酸(E)に富む領域(KE 領域)と PDZ ドメインを含む特徴的な N 末端領域、モーター領域、1 ヶ所の IQ モチーフ、コイルドコイル、および球状尾部で構成されている。こうした特徴的な N 末端領域に加え、クラス 18 に属するミオシンは、モーター領域に他のクラスには見られない特徴的配列を持っている。また、モーター領域の配列をもとに進化系統樹を作成すると、ミオシン XVIII はミオシンスーパーファミリーの中で他のクラスから最もかけ離れたミオシンの一つであることがわかる。

こうしたさまざまな特徴をもつミオシン XVIII A の細胞内機能および生化学的性質に関しては全く知見が得られていない。そこで本論文提出者は、ヒトのミオシン XVIII A である MYO18A に関して、N 末端領域およびモーター領域に注目して生化学的機能解析を行った。

まず MYO18A の機能に関する知見を得るため、ヒト MYO18A に GFP を融合したさまざまな長さの欠失コンストラクトを作成し、GFP を標識としてその細胞内局在を観察した。この結果から、MYO18A の N 末端領域にアクチン結合部位が存在するという可能性が示唆された。次に、コイルドコイルを安定的に二量体化させるために GCN4 のロイシンジッパー配列を融合して二量体化したさまざまな欠失 MYO18A コンストラクトを作成した。こうして作成したコンストラクトの細胞内局在を調べるとともに、アクチン繊維との共沈実験をおこなった。この結果、N 末端領域に ATP 非依存的なアクチン結合部位が存在することが示された。さらに N 末端領域の欠失変異体が大腸菌で発現して共沈降実験をおこない

クチン結合部位を探索した。その結果、アクチン結合部位は N 末端領域のうち KE 領域と PDZ ドメインの間の領域に存在することが示された。この領域の配列は、既知のアクチン結合部位とは相同性が見られなかった。

また、共沈降実験の結果から、MYO18A のモーター領域がミオシンモーターとしての活性を保持していない可能性が示唆された。このことをより直接的に検証するため、MYO18A の N 末端領域およびモーター領域を含むコンストラクトを昆虫細胞において発現、精製し、ATP 加水分解活性を測定したところ、滑り運動を駆動するのに十分な活性はほとんど検出されなかった。

このように本論文は、MYO18A がモータータンパク質としてよりアクチン架橋タンパク質としてアクチン繊維の高次構造形成に関与している可能性を示唆するもので、これまでまったく研究の進んでいなかったクラス 18 ミオシンに関する重要な知見をもたらすものである。したがって、本審査委員会は博士(学術)の学位を授与するのにふさわしいものと認定する。