

生命現象を営む最小の単位である細胞が機能するためには、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が正しく行われることが必要である。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が、それらの分子機構を明らかにすることは、生命現象の理解にとって必須のものであり、モータータンパク質の作用メカニズム自体とともに、それらの細胞内での働きを調節するメカニズムを解明することは重要な課題である。モータータンパク質であるダイニンは巨大で複雑な複合体であるために他のモータータンパク質であるミオシンやキネシンに比べてその機構は未解明の部分が多い。ダイニンの調節因子としてダイナクチン複合体が知られているが、それがダイニンのモーター活性を調節する機構については、これまで研究が行われていなかった。小林琢也君は、「ダイナクチン p150 の微小管結合に関する研究」と題した研究課題において、ダイナクチン複合体の 1 つである p150 の微小管結合部位フラグメントの性質を生化学的・生理学的に詳細に解析し、ダイニンの運動機能に対する役割について新たな知見を得た。

ダイナクチン p150 は微小管と結合する領域、ダイニンと結合するための領域、輸送物質と結合するための領域をもち、ダイナクチン複合体の中心的役割を果たしている。その N 末端に位置する微小管結合領域は CAP-gly ドメインと K-rich 領域が並んでいるが、小林君はまず、CAP-gly ドメインのみのフラグメント (N105) と両者を含むフラグメント (N145) を組換えタンパク質として大腸菌で発現・精製した。これらのフラグメントがモノマーとして存在することを確認したのちに、微小管との共沈降実験により両者の解離定数を求め、また、微小管を構成しているチューブリンダイマーと 1:1 の量比で結合することを明らかにした。チューブリン上の酸性領域 (E-hook) を除去した微小管との相互作用を調べたところ、親和性が著しく低下していることが明らかになり、静電的相互作用が重要であることが示された。さらに、これらのフラグメントの微小管結合がダイニンやキネシンの結合によって影響を受けるかどうかを調べたところ、これらのフラグメントはキネシンとの競合を示したが、ダイニンとは競合せず、かつ互いに影響を及ぼさないことがわかった。また、これらのフラグメント 1 分子が微小管と相互作用するようすを、1 分子計測系で顕微鏡観察したところ、微小管上でブラ

ウン運動をしていることが確認され、弱い結合をしていることが明らかになった。N145 フラグメントでは N105 フラグメントより微小管上での滞在時間が長いことから、K-rich 領域の微小管結合において弱い結合ながらも長時間微小管上に滞在するための役割を持つことがわかった。

これらの結果から、ダイナクチン p150 はダイニンと複合体を形成した時に、ダイニンの微小管上の運動を妨げることなく、ダイニンを微小管上につなぎとめておく機能を有し、微小管上からダイニンが解離して運動を続けられなくなることを阻む役割を持つと推察できる、との結論を導いた。

以上のように、小林琢也君は本論文において、ダイナクチン p150 の微小管結合に関する性質を調べ、そのダイニンの運動における役割を分子レベルの実態に即して明らかにして、新たな知見を得た。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。