

論文の内容の要旨

論文題目

Monomeric kinesin motor KIF1A actively detaches from microtubules utilizing the energy of ATP hydrolysis.

(ATPの加水分解エネルギーを利用した単頭型キネシンモーターKIF1Aの微小管からの能動的解離)

氏名 仁田 亮

キネシンスーパーファミリー蛋白(KIF)は、細胞内の物質輸送を担う蛋白質で、微小管上を能動的に移動する分子モーターである。KIFはATPを加水分解する活性を持ち、その化学的エネルギーを力学的エネルギーに変換して動く。しかし、KIFがATPを加水分解することによってどうして微小管上を動くことができるのかについては、全く未知のままであった。

KIFと微小管との結合状態は、ATPの加水分解サイクルに同期して二つの状態を遷移することが知られていた。すなわち、ATP結合状態(加水分解前)のKIFは微小管と強く結合し(Strong-binding state)、ADP結合状態(加水分解後)では緩く結合する(Weak-binding state)。そして私は、今回の生化学的実験により第三の状態が存在する事を証明した。それは、ATP結合状態とADP結合状態の遷移状態、つまりADP-リン酸状態で起こり、KIFと微小管との結合が最も弱くなる(Actively detaching state)。故にKIFは、ATPを加水分解する際、Strong-binding state、Actively detaching state、Weak-binding stateをこの順に遷移する。

この三つの遷移状態のKIFでは、微小管との結合状態を変える為に分子レベルで何らかの構造変化が起こっている事が予想された。そこで私は、モノマー型の最も単純なKIFモーターであ

る KIF1A の原子レベルの構造を X 線結晶解析により決定した。その際、以下に示すように 3 種類のアナログを結合させた 3 種類の KIF1A の構造を決定した。(1) ATP 結合状態 (ATP アナログの AMPPNP 結合状態: Strong-binding state)、(2) 早期 ADP-リン酸状態 (ADP-リン酸アナログの ADP-AIF3 結合状態: Strong-binding state)、(3) 後期 ADP-リン酸状態 (ADP-リン酸アナログの ADP-vanadate 結合状態: Actively detaching state)。そして既知の (4) ADP 結合状態 (Weak-binding state) も含め 4 種の KIF1A の結晶構造を比較した。

KIF1A では、ATP の加水分解に伴ってスイッチ-I、スイッチ-II と呼ばれる二つの領域の構造が劇的に変化する。スイッチ-I が構造を変える事で、効率良く ATP が加水分解され、リン酸が放出される。更にスイッチ-I の構造変化がスイッチ-II のより大きな構造変化を誘起する。スイッチ-II 領域には KIF1A の主要な微小管結合部位が含まれている為、スイッチ-II の構造変化によって KIF1A と微小管との結合状況が大きく変わることが予想された。そこで私は、KIF1A-微小管複合体のクライオ電子顕微鏡像を利用し、コンピュータ上で KIF1A と微小管との結合実験を行った。その結果、スイッチ-II の構造変化によって KIF1A と微小管との結合面の構造が大きく変化していた。スイッチ-II は、 $\alpha 4$ ヘリックスとその両端のループ領域 (L11、L12) から構成されている。加水分解直前の KIF1A はループ L11 を微小管へと伸展し、L11 を介して微小管と強く結合している (ATP 結合状態: Strong-binding state)。加水分解が始まると、L11 を能動的に微小管から剥がして微小管から一時的に解離する (ADP-リン酸状態: Actively detaching state)。そして加水分解が終わると、今度は別のループ L12 によって微小管と緩く結合する (ADP 状態: Weak-binding state)。この L12 の結合相手は微小管の E フックと呼ばれるヒモの様にゆらぎの大きい構造であり、この状態の KIF1A は微小管上を一次元ブラウン運動する。

これらの構造生物学的知見を一分子解析により得た KIF1A の動態と照合する事により、私は次のようなキネシンスーパーファミリー蛋白の動作機構のモデルを提唱する。微小管上には、KIF の結合部位が 8nm おきに等間隔で点在している。この結合部位の一つに、KIF は ATP の加水分解前に L11 というループを使って強く結合する。加水分解が始まると、KIF はそのエネルギーを使ってこの強い結合を能動的に解き、一時的に微小管から解離する。加水分解終了後、今度は別のループの L12 により微小管と緩く結合、微小管上を一次元ブラウン運動しながら次の結合部位を模索する。そして ADP を放出する際、微小管プラス端方向へ選択性を持って結合することで、微小管プラス端方向への動きが生ずる。そしてまた新たな ATP の加水分解サイクルへと移る。

このようにして KIF は、ATP の加水分解で生ずるエネルギーを利用して微小管上を能動的に移動する。その際、KIF は ATP の加水分解のエネルギーを直接方向性のある動きに変換するのではなく、微小管との結合を解く事に利用し、新たな加水分解サイクルが始まる事を可能にしている。このような標的分子からの能動的解離は KIF だけに限られた機構ではなく、G 蛋白質や蛋白キナーゼ等、一群の Walker 型加水分解酵素にも共通してみられる現象である。KIF を含めこれらの加水分解酵素の基本構造は非常に類似しており、細かい構造の違いを付け加えながら、G 蛋白質は情報伝達カスケードの入/切を調節する分子スイッチに、KIF は分子モーターへと、巧妙に分子レベルの進化を遂げて来た事が推測される。