

審査の結果の要旨

氏名 仁田 亮

本研究は、キネシンモーター分子が ATP を加水分解して得たエネルギーをどのように利用して微小管上を動く事ができるのか、その動作機構を明らかにするため、主に X 線結晶解析を用いて構造生物学的に解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. キネシンモーター-KIF1A を大腸菌で大量発現し、ATP (AMPPNP) 結合状態、ADP-リン酸 (ADP-vanadate) 結合状態、ADP 結合状態の KIF1A と微小管との解離定数を調べた所、KIF1A と微小管との結合の強さが ATP の加水分解により劇的に変化する事が示された。つまり、KIF1A は ATP 結合状態では最も結合の強い Strong-binding state、ADP-リン酸結合状態では最も結合の弱い Actively detaching state、ADP 結合状態ではその中間の Weak-binding state をとる事が明らかにされた。
2. ヌクレオチドアナログの AMPPNP、ADP-AIF3、ADP-vanadate を各々結合させた 3 種類の KIF1A の原子レベルの構造を X 線結晶解析により決定し、既知の ADP 結合状態の構造も含めて 4 種類の KIF1A の結晶構造を比較した。その結果、KIF1A は ATP の加水分解により劇的に構造変化を起こす事、構造変化を起こす部分には微小管との主要な結合腕である 2 つのループ領域 L11 と L12 が含まれる事が示された。そして、KIF1A は ATP (AMPPNP) 結合状態では主に L11 で、ADP 結合状態では主に L12 で微小管と結合し、加水分解中間状態 (ADP-vanadate 結合状態) では L11、L12 とも微小管との結合に関与できなくなる事が明らかにされた。これにより、生化学的実験により示唆された 3 種類の結合状態 Strong-binding state、Actively detaching state、Weak-binding state を支える分子レベルの構造生物学的機構が示された。
3. KIF1A の二つの微小管結合腕 L11、L12 に変異を入れ、野生型と変異型との KIF1A と微小管との解離定数を調べた所、ATP (AMPPNP) 結合状態では L11、ADP 結合状態では L12 が微小管との結合に主に関与している事が生化学的にも示された。

以上、本論文はキネシンモーター-KIF1A が ATP を加水分解する事によって起こる変化を生化学的及び構造生物学的手法を駆使して、機能、構造両面から明らかにした。これにより、キネシ

ンモーターは ATP を加水分解する事によって得たエネルギーを「直接的に前に動く事に利用している」という定説を覆し、「能動的に微小管との結合を外す事に利用している」事が示された。この機構は G 蛋白質等その他の加水分解酵素にも共通してみられるものであり、故に本研究は、キネシンモーターの微小管上の動作機構の解明のみならず、加水分解酵素としての共通の性質を利用した巧みな生物分子機械の動作機構の解明にも重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。