

## 審査の結果の要旨

氏名 王礼寧（寧）

本研究は神経細胞の極性と機能を維持するために重要な役割を演じている物質輸送を担うモーター分子群、キネシンスーパーファミリー蛋白(kinesin superfamily proteins、KIFs)の中の新しい分子、KIF16A を解析したものであり、下記の結果を得ている。

1. 全長 14337 塩基、4590 アミノ酸を有する KIF16A の全長を脳 cDNA ライブライアからクローニングした。N-末型モーター分子であり、Kinesin-3 ファミリーに特異的な FHA ドメインを持ち、分子系統分類上も膜状小胞に携わる Kinesin-3 ファミリーに属することが判明した。
2. ノーザンプロットティングとウェスタンプロットティングの結果、KIF16A は脳、肺、心臓など多数の組織で発現されていることが示された。
3. Subcellular fractionation 法と floating assay 法を用いて、マウス脳における細胞内の局在分画を調べた結果、KIF16A は一部 TritonX-100 感受性の膜状小胞と結合し、大半は耐性の膜状小胞分画に存在することが見い出された。
4. Yeast two-hybrid 法を用いて、結合蛋白候補として TRAPPC6A という蛋白質が同定できた。10 個のサブユニットにより構成されている TRAPP 複合体に所属しており、分泌顆粒などの膜状小胞の輸送に関わっていることが知られている。大腸菌から精製した蛋白により、両者の間の特異的な親和性が binding assay によって確認できた。またマウス脳を試料として内在性の KIF16A を抗体により免疫沈降し、強制発現した TRAPPC6A-GFP が共沈し、TRAPPC6A-GFP より内在性の KIF16A が共沈することより生体内においても両蛋白が結合することが示唆された。
5. 培養細胞を用いた蛍光抗体法による実験を行い、Neuro2A 細胞では、顆粒状の染色が細胞核周辺に強く、突起にも見られた。伸長途中と思われる短い突起に染色は強く、長い突起では比較的弱かった。海馬神経細胞においても同様の結果が得られた。この所見により KIF16A は成長途中の突起の先端へ膜状小胞を輸送していることが推察される。
6. Neuro2A 細胞に発現させた TRAPPC6A の GFP 融合蛋白は、核周辺と突起など

に KIF16A と共に局在するのが見られた。

以上、本論文はマウスより新しい輸送モーター蛋白質 KIF16A を同定し、その機能を解析した。KIF16A は 500kDa の大型で多数の組織に発現する KIF であり、TRAPPC6A を介して膜状小胞を神経突起の成長円錐まで輸送し、神経細胞における極性や細胞内分質輸送の解明に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。