

## [課程-2]

### 審査の結果の要旨

氏名 井上 茂之

本研究は細胞内の重要なモータータンパク質であるキネシンスーパーファミリータンパク質 (KIFs) のうち、神経細胞内に特異的に分布する KIF5C を対象にし、tail 領域が自身のモーター領域を阻害することでエネルギー (ATP) 消費を抑える auto-inhibition の分子機構を明らかにするため、X 線結晶構造解析による立体構造の解明を試みたものであり、以下の結果を得ている。

1. KIF5C のモーター領域コンストラクト M1 と tail 領域コンストラクト T3 の混合溶液から結晶を得、この結晶の X 線回折データを分子置換法で解析したところ、tail 領域の構造は観察されなかったが、モーター領域の nucleotide binding pocket が無ヌクレオチドの状態であり、さらに  $\alpha 3$  ヘリックスが Mg-ADP 状態 (weak binding 状態) と比べて pocket から離れる方向に  $15^\circ$  程度回転していること、 $Mg^{2+}$ -stabilizer の結合も完全に解離していることがわかり、pocket は“開”状態であることが判明した (モデル A)。
2.  $\alpha 4$  ヘリックスの軸の傾きや長さから strong binding 状態であることが示唆されたため、strong binding 状態の KIF1A と微小管の複合体の電子顕微鏡像に今回のモデル A をフィッティングさせ in silico でのドッキングによる KIF5C-微小管複合体モデルを作成した。その結果 KIF5C 側の結合面の凹凸と微小管側の結合面の凹凸が完全にかみ合う構造を呈しており、strong binding 状態である可能性が高いことがわかった。
3. M1 と tail ペプチド P1 の複合体を結晶化し X 線回折データを分子置換法で解析した。M1 のみの結晶 (モデル B) と比較すると M1-P1 複合体では M1 の  $\alpha 3$  ヘリックスの N 末端側に新たな電子密度が嵌り込むように出現し、これが P1 と考えられた。また nucleotide binding pocket はモデル A と同様に“開”状態かつ無ヌクレオチド状態であった (モデル C)。今まで無ヌクレオチド状態のモーター領域の構造はその不安定性のため明らかになっていなかったが、この結果から一連の構造変化を誘導、維持しているのが自身の tail 領域であると考えられた。
4. モデル C を用いてモデル A と同様に in silico での KIF5C-微小管複合体モデルを作成したところ、tail の作用部位は KIF5C と微小管の結合面に影響しないことがわかった。
5. 上記より、tail の作用により一連の構造変化が生じると KIF5C はヌクレオチドが pocket 内に

入ってきても捕獲できずは無ヌクレオチド状態が維持され、その結果 ATP 加水分解サイクルの反応が進まなくなる。これが KIF5C の tail 領域による ADP/ATP 交換過程の阻害、ひいては auto-inhibition の中心的分子機構であることが示唆され、これまでに示されている auto-inhibition のメカニズムとは異なる新たなモデルを提唱できた。

以上、本論文はモータータンパク質 KIF5C に関して X 線結晶構造解析により無ヌクレオチド状態の構造を明らかにし、その構造変化から auto-inhibition の分子機構について新たなモデルを提唱したものである。本研究は KIFs による細胞内輸送に関する一連の制御機構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。