

【別紙 2】

審査の結果の要旨

氏名 岡田康志

本研究は、神経細胞などで細胞内の物質輸送という細胞内の兵站機能を担う本体である分子モーターのキネシンについて、その動作原理を解明するためのアプローチで、以下の結果を得ている。

1. 定説を覆し、モータードメインを 1 個しか持たない単頭型キネシン KIF1A が、高い運動活性を持つことを示した。
2. 蛍光顕微鏡を改良することで、蛍光一分子を直接観察できる実験系を構築し、KIF1A が単頭 1 分子の状態で長距離連続的に運動できることを直接的に証明した。
3. 過渡的酵素反応速度解析を行い、反応速度解析から推定される KIF1A の連続運動特性が、上記一分子計測の結果と定量的によく一致することを示した。
4. KIF1A が単頭 1 分子で連続運動することは、既存のモデルでは説明できない。そこで、単頭 1 分子で連続運動できない従来型キネシン KIF5C および他のキネシンスーパーファミリー蛋白群を分子進化的に比較した。その結果、ループ 12 の正荷電クラスターが、単頭 1 分子での連続運動に必要な部位の候補として予想された。
5. 上記予想を変異体作成により検証した。KIF1A のループ 12 の正荷電を減少させると荷電量に応じて連続運動性が減少し、逆に KIF5C のループ 12 に正荷電クラスターを導入すると単頭 1 分子で連続運動できるようになった。
6. 変異体の解析により、連続運動性と ADP 状態での微小管との親和性が定量的に相関していることが示された。
7. 微小管上のループ 12 の結合相手が、tubulin の C 末の負荷電クラスターであることを、subtilisin を用いた限定加水分解により確認した。
8. 上記の結果により、ADP 状態での微小管との結合が単頭 1 分子での連続運動性に強く関連していることが示唆されたので、ADP 状態での KIF1A と微小管との結合の様子を、蛍光 1 分子観察により確認した。その結果、KIF1A は ADP 状態で微小管に結合したまま、微小管に沿った一次元ブラウン運動を行うという意外な結果が得られた。
9. KIF1A が、その加水分解サイクルの中で微小管に沿った一次元ブラウン運動を行うという新しい知見に基づいて、KIF1A の運動をフラッシュラチェット機構を応用してモデル化した。
10. 一分子計測および酵素反応速度測定の結果から得られたパラメータをモデルに代入することで、KIF1A の運動が定量的に説明できた。また、さまざまな揺動に対する応答も、同じモデルで定量的に説明できた。

以上、本論文は、単頭型キネシン KIF1A の解析から、キネシンの運動機構として定説を覆す新しい動作原理を明らかにした。分子モーターがブラウン運動を利用して運動しているという仮説は、おもに物理学系の研究者から何度も提唱されてはいたが、生体分子モーターにおいて実際にブラウン運動を利用している例は本研究が最初である。分子モーターの運動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。