

審査の結果の要旨

氏名 常 慶

本研究は細胞内物質輸送および細胞分裂に重要な役割を果たしているキネシンスーパーファミリータンパク質 KIF4 の微小管上の能動的移動の分子機構を明らかにするため、主に X 線結晶解析法を用いた構造生物学的解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. KIF4 のモータードメインを大腸菌で大量発現、精製し、ATP のアナログである AMPPNP を結合させた状態で結晶を作成、X 線結晶解析法を用いて立体構造を 1.8Å の高分解能で決定した。
2. 既に報告されている KIF1A のモータードメインの 2 種類の ATP アナログ結合状態の構造(AMPPNP および AMPPCP)と比較したところ、ATP の加水分解および微小管上の運動活性に重要な Switch I および Switch II に大きな構造の差異が認められた。この 2 つの部位のアミノ酸配列はキネシンスーパーファミリータンパク質間で高度に保存されており、故に KIF1A-AMPPCP, KIF1A-AMPPNP, KIF4-AMPPNP は ATP 加水分解サイクルの中で異なる遷移状態を示したものであると推測された。
3. 詳細に比較してみると、KIF1A-AMPPCP は ATP ポケットが開放された状態、KIF1A-AMPPNP は ATP ポケットが半分閉じた状態、KIF4-AMPPNP は ATP ポケットが完全に閉じた状態であることがわかった。これまでミオシンなどで得られた知見を参考にすると、KIF1A-AMPPCP → KIF1A-AMPPNP → KIF4-AMPPNP の順に ATP が ATP ポケットに結合していく過程を現しており、KIF4-AMPPNP は加水分解が始まる直前の構造であると考えられた。
4. この ATP ポケットが閉じる過程で、ポケットの裏口に相当するイオン架橋 (R212-E246) の形成が非常に重要であることが構造より示唆されたため、それを生化学的に実証する目的で、裏口の変異体を用いた ATP 加水分解の反応速度解析を行い、裏口のイオン架橋が ATP の加水分解の進行に非常に重要であることが示された。
5. キネシンの微小管上の移動は、二足歩行の如く二つのモータードメインが交互に微小管に付くことにより実現されると考えられているが、この 2 足歩行には 2 つのモータードメインを繋ぐ部分である Neck-linker の動きが重要であることが知られていた。これに関して今回の構造解析により、ATP の結合が進むにつれて ATP ポケットの小さな構造変化が Switch II の回転運動を介して Neck-linker が前方に振り出される構造変化へと伝達される過程を捉えることに成功し、二足歩行の構造的基盤が示された。
6. KIF4 の微小管結合部位を立体構造から推定することにより、微小管結合に関連する KIF4 特異的な配列を同定した。これは、KIF4 がどのように微小管の重合・脱重合のダイナミクスを調整するかを知る重要な手がかりであり、今後の構造生物学的、生物学的解析が待たれる。

以上、本論文はキネシンモーターKIF4 に ATP が結合する過程で生じる構造変化を構造

生物学および生化学的に解析し、構造・機能両面から明らかにした。これにより、キネシンスーパーファミリータンパク質全般における微小管上の運動活性発生の分子機構を明らかにするのみならず、**KIF4** 特異的な微小管のダイナミクスの調節の分子機構解明に重要な手がかりを与えられ、学位の授与に値するものと考えられる。