

H12年 1月 13日

エコロジー工学専攻	学籍番号	977470
申請者氏名	モハammad ユスフ アリ	

指導教官氏名	鈴木 滋郎
	菊池 洋
	青木 克之
	Shahid S. Siddiqui

論文要旨 (博士)

論文題目	線虫 <i>C.elegans</i> におけるキネシタンパク質群の機能、構造及び生物物理学的解析
------	---

キネシンは細胞内においてモーター分子として働くタンパク質群である。キネシンはいずれも ATP をエネルギー源として細胞内輸送をつかさどっており、さまざまな物質がふさわしい場所に存在するために必須である。これまでに X 線結晶解析などにより、どのように輸送のための力が発生するのか等の生物物理学的な知見は得られているが、いくつかの重要な問題が依然として残っている。たとえば、どれだけの種類のキネシンが存在するのか？ひとつの細胞で同時に存在しているキネシンは何種類なのか？それぞれのキネシンの機能は互いに重複しているのかそれとも固有のものなのか？発生段階によってそれぞれの発現様式はどのように変化するのか？キネシン以外の分子との相互作用はどうであろうか？本研究はこのような問題に対して線虫 *C. elegans* をモデル系として取り組んだものである。

キネシンの機能を遺伝子及び細胞レベルで理解する手がかりとして、われわれのグループでもすでに線虫においてキネシン及びキネシン様タンパク質をコードする多数の遺伝子群 (*klp-1* ~ *klp-20*) を同定している (1)。本研究ではそれぞれのキネシンに相当する 15 の cDNA クローンについて、予想されるアミノ酸配列を元にその相互類似関係を系統樹にあらわし、9 つのグループに分類した。これらの線虫のキネシンは哺乳類などで明らかになっているキネシンのすべてのグループに相当するものであった。さらにコンピューターにより線虫のキネシタンパク質の 2 次、3 次構造を推定した。実際の線虫体内での発現様式や機能を明らかにするために RNA *in situ* ハイブリダイゼーション、*lacZ* レポーターアッセイ、及び二重鎖 RNA による遺伝子干渉実験を行った。

本研究の第 2 部では多数のキネシンのうち、キネシン重鎖をコードする遺伝子 *unc-116* について重点的に、他のキネシン遺伝子、特に *vab-8* との関係や、発生過程での発現様式などを調べた。まず、*unc-116* 遺伝子は胚発生の初期段階での細胞分裂時と、後胚発生での神経筋接合部の発達に必要であることがわかった。さらに、VAB-8 とキネシン重鎖との相互作用から、VAB-8 が微小管とアクチンフィラメントのそれぞれに基づいた細胞内輸送を仲介しているという可能性を示した。

第 3 部では、C 末端モーター型の 3 つの新規なキネシン遺伝子、*klp-15*, *klp-16*, *klp-17* をクローニングした (2-3)。アミノ酸 1 次配列及び 2 次構造に基づいた比較により *klp-15*, *klp-16*, *klp-17* は、すでに知られていた *Drosophila* の C 末端モーター型キネシン NCD 及び線虫の *klp-3* とは異なる独自のサブグループを形成することが明らかになった。二本鎖 RNA による遺伝子干渉実験では *klp-3*, *klp-15*, *klp-16*, *klp-17* のいずれもが細胞分裂時の染色体移動及び紡錘体の正常な配向に必要であることがわかった。同様に N 末端モーター型キネシン KLP-12 もニワトリのクロモキネシンと同じように染色体分離にかかわっていた。結論として、すべてのキネシンが染色体の分離に何らかの関与をしているものの、それぞれ独自の、あるいは部分的に重複する機能も持っており、さまざまな物質の細胞内輸送を制御する上で複雑な階層構造をなしていると考えられる。細胞分裂時の正常な染色体分配が正常な発生やあるいは癌化のメカニズムを考える上で重要である点を考えると、これらのキネシタンパク質群は染色体分離を含めた細胞内物質輸送を研究する上で新しい手段を与えるものになるであろう。