

科学研究費助成事業（特別推進研究）公表用資料
〔研究進捗評価用〕

平成23年度採択分

平成26年5月30日現在

研究課題名（和文） **キネシンモーター分子群の機能と制御の
統合生物学的研究**

研究課題名（英文） **Integrative biological research on
function and regulation of kinesin
superfamily molecular motors**

研究代表者

廣川 信隆 (HIROKAWA NOBUTAKA)

東京大学・大学院医学系研究科 特任教授



研究の概要:キネシンスーパーファミリーモーター分子群(KIFs)による細胞内輸送の分子機構、その制御・作動機構の解明、及び個体レベルでの機能の解析による KIFs の関わる生命現象の未知の機構の解明と関連した疾病の病態の解明

研究分野:生物学

科研費の分科・細目:生物科学・細胞生物学

キーワード:キネシンスーパーファミリー、分子モーター、細胞内輸送、微小管

1. 研究開始当初の背景と研究の目的

私達の体を構成する神経細胞を始め全ての細胞は、細胞の働きに必須な機能蛋白分子を合成後、多種類の膜小器官、蛋白複合体、さらには mRNA 蛋白複合体として細胞内の目的地へ適正な速度で輸送する。この輸送は、細胞の機能、形作り、そして生存の為に必須である。私達はその主役である微小管をレールとする Kinesin superfamily 分子群(KIFs)を発見し、哺乳類の全遺伝子 45 個を同定した。分子細胞生物学、分子遺伝学、を駆使して、KIFs が、多様な機能分子を輸送し分けるだけでなく、脳の高次機能、神経回路網形成、体の左右非対称性の決定、腸管神経系の発生、腫瘍の抑制など驚くべき重要な生命現象を司っている事を解明した。この様にモーター分子群 KIFs は、細胞機能の根幹を担っていると同時に様々な基本的生命現象を司っている。しかしながらまだ機能が解明されていない多くの KIFs が存在し、KIFs の制御機構、KIFs の個体レベルでの機能、KIFs の情報分子等としての新たな機能、微小管との相関による KIFs の作動・方向性輸送機構を含む多くの解明すべき課題が存在する。本研究は、下記にあげる未知の課題について世界に先駆けて研究を一層大きく発展させる事を目的とする。

1) KIFs の細胞内物質輸送における機能とその制御機構

A) 未知の KIFs の機能の解明、B) KIFs のカーゴ認識・結合機構の分子細胞生物学的及び構造生物学的解明、C) KIFs の機能のリン酸化による制御機構、D) 神経系で発現する

KIFs の脳・神経活動依存性の機能制御の機構
2) 細胞内での KIFs の高空間・時間分解能での分子動態の可視化と微小管との相互作用による輸送の方向性及び作動制御の機構

3) KIFs の個体レベルでの機能

4) KIFs の情報伝達因子等の新しい機能

2. 研究の方法

分子細胞生物学、分子イメージング、分子遺伝学、X線結晶解析学、クライオ電子顕微鏡法、電気生理学などの多彩な手法

3. これまでの成果

1), A)と 3) は、相互に関連しているので合わせて記述する。

a) KIF5A は GABA A 受容体を GABARAP を介して認識結合し、細胞体より樹状突起細胞膜に輸送し、其の欠損は癲癇を起因する (Nakajima et al. *Neuron*, 2012)。

b) KIF13A はセロトニン受容体、5HT1AR にその FHA domain を介して直接結合し細胞膜へ輸送し、其の欠損は、顕著な不安症状を起因しこのマウスは、鬱病ないし不安神経症の良いモデルとなる (Zhou et al. *Cell Rep*, 2013)。

1), B) KIF5 のカーゴ結合部位、KIF5 とキネシン軽鎖複合体等の構造を、X線結晶解析、小角散乱法、NMR 等により解析している。

a) KIF4 の AMPPNP 状態の構造を 1.7 Å の分解能で解き KIF の共通な作動機構を解明 (Chang et al. *J. Mol Biol.* 2013)。

b) KIF19A, c) KIF2A の構造解析を行いそれぞれの微小管脱重合機構を解析している。

1), C) a) KIF5, b) KIF3, c) KIF2 のリン酸化部位の解析を行いその生理的意義を解析。

1), D) 分子遺伝学、分子細胞生物学、生理学を駆使して以下を解明した。

a) KIF17 は NMDA 型受容体 NR2B を樹状突起内で輸送し記憶・学習を制御する (Yin et al. *Neuron*, 2011)。b) KIF17 と cargo の結合は、りん酸化により制御され、記憶・学習をコントロールする (Feng et al. *J. Neurosci*, 2013)。c) KIF1A は神経発達において刺激の豊かな環境での記憶・学習能力の増強に必須である (Kondo et al. *Neuron*, 2012)。

2) a) 超高分解能の PALM 顕微鏡などを用い、KIF5 モーター領域はそれ自体で軸索方向へ主に動く方向性決定の基盤は軸索内微小管が樹状突起微小管に比較し、GTP 型 beta tubulin に富み、KIF5 motor domain は GTP 型微小管に親和性が強いことを証明した (Nakata et al. *J Cell Biol*, 2011)。

b) 高速超解像ライブイメージング顕微鏡の開発とそれを用いたモーター分子と微小管の結合反応の細胞内での直接計測に成功。

c) 単粒子解析法を取り入れたクライオ電子顕微鏡の新しい画像解析アルゴリズムを開発し、それを用いクライオ電顕による GTP 型/GDP 型微小管における tubulin の構造変化を解明した (Yajima et al. *J Cell Biol*, 2011)。

d) Kinesin が微小管に結合することにより Kinesin および微小管双方に構造変化が起こり、これが方向性輸送の基盤となる事を解明した (Morikawa et al. *Dev Cell*, rev 2014)。

4) 分子遺伝学と分子細胞生物学的方法を駆使して以下を解明した。

a) KIF13B は Lipoprotein Receptor Like Protein 1 (LRP1) のカベオリン依存性エンドサイトーシスを促進し KIF13B を欠損すると高脂血症となる (Kanai, et al. *J Cell Biol*, 2014)。

b) KIF2A は活性が PIP kinase alpha で亢進され神経成長端で微小管の脱重合を行い軸索側枝の伸長を制御する事により神経回路網の形成に基盤的な役割を果たす (Noda et al. *PNAS*, 2012) c) KIF19A は線毛内で微小管を脱重合する事により線毛の長さを決め、体内の液の適正な流れを形成し、其の欠損は、水頭症、女性不妊症を起因する (Niwa et al. *Dev Cell*, 2012)。

d) KIF12 が微小管系のスキヤフォールドとして転写因子 Sp1 を安定化し、その下流の Hsc70 シャペロンの発現を増強することによってペロオキシソームへのマトリックス蛋白の導入効率を高め、酸化ストレスを制御し、KIF12 欠損マウスは 2 型糖尿病のモデルとなる (Yang et al. *Dev Cell. Rev* 2014)。

4. 今後の予定
全ての課題について順調に進展しているので当初の予定通り研究を遂行する。

5. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

1. Kanai, Y., D. Wang and N. Hirokawa. KIF13B enhances the endocytosis of LRP1 by recruiting LRP1 to caveolae. *J Cell Biol* 204: 395–408, 2014.

2. Chang, Q., R. Nitta, S. Inoue, and N. Hirokawa. Structural basis for the ATP-induced isomerization of kinesin. *J Mol Biol* 425: 1869-1880, 2013.

3. Niwa, S., H. Takahashi, and N. Hirokawa. beta tubulin mutation that cause severe neuropathies disrupt axonal transport. *EMBO J* 32:1352-1364, 2013.

4. Zhou, R., S. Niwa, L. Guillaud, Y. Tong, and N. Hirokawa. A Molecular Motor, KIF13A, Controls Anxiety by Transporting the Serotonin type 1A Receptor. *Cell Rep* 3: 509-519, 2013.

5. Nakajima, K., X. Yin, Y. Takei, D.-H. Seog, N. Homma, and N. Hirokawa. Molecular Motor KIF5A Is Essential for GABA_A Receptor Transport, and KIF5A Deletion Causes Epilepsy. *Neuron* 76: 945-961, 2012.

6. Niwa, S., K. Nakajima, H. Miki, Y. Minato, D. Wang, and N. Hirokawa. KIF19A Is a Microtubule-Depolymerizing Kinesin for Ciliary Length Control. *Dev Cell* 23: 1167-1175, 2012.

7. Yajima, H., T. Ogura, R. Nitta, Y. Okada, C. Sato, and N. Hirokawa. Conformational changes in tubulin in GMPCPP and GDP-taxol microtubules observed by cryoelectron microscopy. *J Cell Biol* 198: 315–322, 2012.

8. Yin, X., X. Feng, Y. Takei, and N. Hirokawa. Regulation of NMDA Receptor Transport: A KIF17-cargo Binding/Releasing Underlies Synaptic Plasticity and Memory in vivo. *J Neurosci* 32: 5486-5499, 2012.

9. Kondo, M., Y. Takei, and N. Hirokawa. Motor protein KIF1A is essential for hippocampal synaptogenesis and learning enhancement in an enriched environment. *Neuron* 73: 743-757, 2012.

10. Noda, Y., S. Niwa, N. Homma, H. Fukuda, S. Imajo-Ohmib, and N. Hirokawa. PIPKa regulates neuronal microtubule depolymerase kinesin, KIF2A and suppresses elongation of axon branches. *P.N.A.S.* 109:1725-1730, 2012.

11. Nakata, T., S. Niwa, Y. Okada, F. Perez, and N. Hirokawa. Preferential binding of a kinesin-1 motor to GTP-tubulin-rich microtubules underlies polarized vesicle transport. *J Cell Biol* 194 : 245-255, 2011.

12. Yin, X., Y. Takei, M. Kido and N. Hirokawa. Molecular motor KIF17 is fundamental for memory and learning via differential support of synaptic NR2A/2B levels. *Neuron* 70:310-325, 2011.

(受賞等)

- ・平成 25 年度文化功労者として顕彰
- ・AAAS Fellow (American Association for the Advancement of Science) に推挙された

ホームページ
<http://cb.m.u-tokyo.ac.jp>