

科学研究費補助金（特別推進研究）公表用資料  
〔研究進捗評価用〕

平成18年度採択分

平成21年4月20日現在

研究課題名（和文） キネシンモーター分子群による  
細胞内物質輸送の分子機構：構造、機能、動態及び制御  
研究課題名（英文） The Mechanism of Intracellular Transport and  
Kinesin Motors, KIFs : Structure, Function, Dynamics and Regulation  
研究代表者

氏名 廣川 信隆 (HIROKAWA NOBUTAKA)

所属研究機関・部局・職 東京大学・大学院総合文化研究科・特任教授



研究の概要：細胞内物質輸送は、真核生物のすべての細胞・組織に存在し、細胞の機能と生存に必須の基本的機構である。私たちが同定したキネシンスーパーファミリーモーター分子群(KIFs)による、微小管のレールに沿った物質輸送の機構を分子細胞生物学的に明らかにし、同時に個々のKIFの遺伝子欠失マウスを分子遺伝学・分子細胞生物学的に解析し、脳神経系や発生における役割、疾患との関連など個体レベルでの機能を解明する。同時にモーター分子が、動く機構を、構造生物学、生物物理学を駆使して解明する。

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、微小管、モーター蛋白、細胞内輸送

1. 研究開始当初の背景

神経細胞や上皮細胞をはじめすべての細胞は、細胞の機能にとり必須の機能蛋白分子を合成後、様々な膜小器官あるいは蛋白複合体さらには mRNA 蛋白複合体として目的地へ適正な速度で輸送する必要がある。この細胞内の物質輸送は細胞の重要な機能、形作りそして生存のため必須である。私達は今までにこの輸送機構の主役である微小管をレールとしたキネシンスーパーファミリーモーター分子群(KIFs)を発見し哺乳類の全遺伝子45個を同定した。この研究は、KIFの細胞及び、個体レベルの機能、作動原理等すべての課題について世界に先駆けて研究を大きく発展させることを目的とする。具体的には以下の課題を研究する。

2. 研究の目的

- (1) 新しいモーター分子の構造と機能の分子細胞生物学的解析
- (2) モーター分子による cargo の認識・結合および制御機構
- (3) モーター分子による細胞内輸送の振り分け機構
- (4) モーター分子の機能の分子遺伝学的解析
- (5) モーター分子による mRNA の輸送機構の解明
- (6) モーター分子の作動機構及び Cargo 結合機構の構造生物学的・生物物理学的解析

3. 研究の方法

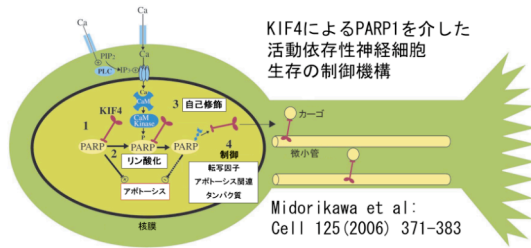
課題(1), (2), (3), (5)については、分子生物学、生化学、免疫細胞化学、多彩なイメージング法及び電子顕微鏡法、を駆使する。課題(4)については、ノックアウトマウス・トランジ

ェニックマウス作製法等及び分子細胞生物学での解析、課題(6)については、クライオ電子顕微鏡法、X線結晶解析、生物物理学を駆使する。

4. これまでの成果

- (1) 10個の新しいKIFsのcDNAクローニングを完了し、そのうち物質輸送に関わるKIFsの分子細胞生物学的解析を行っている。
- (2) KIFがどのように cargoes を認識し、又必要時に離脱するかを解明するために Mint1 を介して NMDA 型グルタミン酸受容体を輸送する KIF17 と Rab3A 等を含むシナプス小胞前駆体を輸送する KIF1Bbeta/KIF1A をモデル系にした。KIF17 と足場蛋白 Mint1 の結合は、KIF17 尾部 S1029 の CaMKII によるリン酸化により離脱する、KIF1B beta/KIF1A は、DENN/MADD を介して Rab3 に結合し、この結合は、Rab3 の GTP 加水分解により制御される、つまり GTPRab3 は、DENNMADD に結合するが、GDPRab3 は、乖離する事を明らかにした。リン酸化と G 蛋白質による2つの大きな制御機構を明らかにした。
- (3) KIF5s のモーター領域が軸索内の微小管を認識する物質基盤を解明した。
- (4) 脳の発達過程で多くの神経細胞が生まれるが、活動するものだけが生き残る。しかしこの機構は、謎であった。私達は、KIF4 が幼若神経細胞の核内に局在し、PARP1 と結合しこれを非活性化することを明らかにした。このままだと神経は、死ぬ。しかし、神経が活動すると Ca<sup>++</sup>が細胞質及び核に流入し、CaMKII を活性化し、これが PARP1 をリン酸化する。すると PARP1 は、KIF4 と離脱し活性化

する。そして神経細胞を生存させる。KIF4 は、核から出て、モーターとして働く。



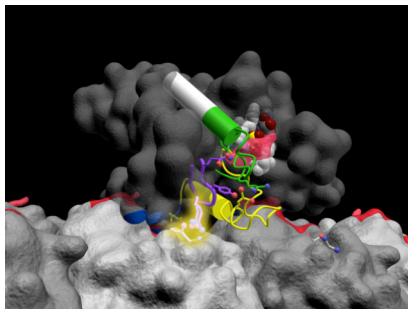
つまり KIF4 が、活動依存性に神経細胞の生死を制御する鍵分子である事、また KIF17 が、NMDA 型グルタミン酸受容体を樹状突起で輸送し、記憶・学習などの高次脳機能を制御している事などを明らかにし生命科学にとっての予期せぬ重要な発見をした。他の数種類の KIFs の knock out マウスも作成済みですすでに非常に興味深い phenotype を示すものが多い。また、胎生致死のケースは、conditional knock out を作成中である。

(5) KIF5s が輸送する mRNA 蛋白複合体について KIF5s が直接結合する蛋白を突き止めた。さらにこの結合が、KIF5s 側、カーゴ側双方の修飾によってどのように制御されるか、またこの仕組みが神経細胞の活動性とどのようにリンクしているかを追及している。

(6) 最も単純な 1 本足 monomer 型モーター KIF1A のモーター領域の構造をクライオ電子顕微鏡で 10 Å の分解能で明らかにし、nucleotide binding pocket の開閉両方の状態についての違いを解明した。KIF1A モーター領域の  $Mg^{++}ADP$  状態から  $Mg^{++}$  が抜ける課程の構造を X 線結晶解析で解きそれをクライオ電子顕微鏡の像と重ねて解析し、ATP 加水分解のほぼすべての構造変化を解明し、2 本足 dimer 型を含む KIFs 一般に当てはまる作動機構を明らかにすることが出来た。

#### 4. 今後の計画

当初の研究計画に基本的に沿って、かつ予期せぬ新しい展開のあった、分子遺伝学、構造生物学、カーゴの認識・結合・脱離の機構などは、新しい展開も意欲的に組み込んで推進する。



(説明)  
ADP 放出  
前の  
KIF1A-  
微小管  
複合体の  
構造。  
微小管  
センサー  
でキ

ャッチした情報は、L7 (紫)、Switch I (緑)、Switch II (黄) の構造変化を介して ATP ポケットへと伝わる。

Nitta, et al. Nature Struct. Mol. Biol. 2008

#### 5. 主な発表論文

1. Hirokawa, N., Y. Tanaka, Y. Okada and S. Takeda. Nodal flow and the generation of left-right asymmetry. *Cell* 125 : 33-45, 2006.
2. Midorikawa R., Y. Takei, and N. Hirokawa. KIF4 motor regulates activity-dependent neuronal survival by suppressing PARP-1 enzymatic activity. *Cell* 125: 371-383, 2006.
3. Hirokawa, N. mRNA Transport in Dendrites: RNA Granules, Motors, and Tracks. *Journal of Neuroscience* 26: 7139-7142, 2006.
4. Kikkawa, M. and N. Hirokawa. High-resolution cryo-EM maps show the nucleotide binding pocket of KIF1A in open and closed conformations. *EMBO Journal* 25: 4187 - 4194, 2006.
5. Nakata, T and N. Hirokawa. Neuronal Polarity and the Kinesin Superfamily Proteins. *Science STKE* 6 February 2007: pe6.
6. Oda, T., N. Hirokawa, and M. Kikkawa. Three-dimensional structures of the flagellar dynein-microtubule complex by cryoelectron microscopy. *Journal of Cell Biology* 177: 243-252, 2007
7. Guilaud, L., R. Wong and N. Hirokawa. Disruption of KIF17-Mint1 interaction by CamKII-dependent phosphorylation: a molecular model of kinesin-cargo release. *Nature Cell Biology* 10 : 19-29, 2008.
8. Hirokawa, N. and Y. Noda. Intracellular transport and kinesin superfamily proteins, KIFs: structure, function, and dynamics. *Physiological Reviews* 88: 1089-1118, 2008.
9. Nitta, R., Y. Okada and N. Hirokawa. Structural model for strain-dependent microtubule activation of Mg-ADP release from kinesin, *Nature Structural & Molecular Biology* 15 : 1067-1075, 2008.
10. Niwa, S., Y. Tanaka and N. Hirokawa. KIF1Bbeta- and KIF1A-mediated axonal transport of presynaptic regulator Rab3 occurs in a GTP-dependent manner through DENN/MADD. *Nature Cell Biology* 11: 1270-1276, 2008.
11. Hirokawa, N., Y. Okada and Y. Tanaka. Fluid dynamic mechanism responsible for breaking the left-right symmetry of the human body: The nodal flow. *Annual Review of Fluid Mechanics*. 41: 53-72, 2009.
12. Hirokawa, N., Y. Noda, Y. Tanaka, and S. Niwa. Kinesin superfamily motor proteins and intracellular transport. *Nature Review Molecular Cell Biology*. (in press) 2009

URL : <http://cb.m-u-tokyo.ac.jp>