

（様式 1-1）

提出日：2025 年 5 月 8 日

2024 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

研究成果報告書

（１）事業名（下記より該当事業名を選択し、ほかは削除してください。）

共同研究員

（２）研究代表者

氏名：丹羽伸介

所属機関名・部局名・職名：東北大学・学際科学フロンティア研究所・丹羽伸介

（３）研究課題名（申請時に記載したものと同一課題名を記入してください。）

分子モータータンパク質の活性化複合体の形成

（４）蛋白質研究所受入担当教員

教員名：中川敦史（研究室名：超分子構造解析学研究室）

（５）研究成果の概要

*背景および目的、方法と結果について、公開して差し支えない範囲で記載。

背景および目的

通常、分子モーターは 2 つのモータードメインを持つ二量体として働き、微小管上を processive に移動する。従来、クロモキネシン Kid (KIF22) 単量体かつ非 processive なキネシンであるとされてきた。近年、いくつかのキネシンファミリーで二量体化が報告されている。本研究では、Kid およびショウジョウバエの UNC-104 という 2 つのキネシンについて、精製タンパク質を用いた mass photometry により、その構造状態を定量的に解析し、モーター活性との関係を明らかにすることをめざした。

方法

ヒトおよびアフリカツメガエル由来の Kid、ならびにショウジョウバエ由来の UNC-104 を Sf9 細胞により発現・精製した。構造状態の解析には、当研究室のサイズ排除クロマトグラフィー (SEC) および蛋白研共通機器の mass photometry を併用し、分子量から単量体・二量体の分布を測定した。また、UNC-104 については、変異体 (bris 変異, G618R 変異) およびヒト疾患関連変異体を同様に解析した。

結果

Kid および UNC-104 はいずれも SEC では主に二量体として検出されたが、mass photometry ではナノモル濃度で単量体と二量体が共存し、濃度依存的な構造平衡状態を示した。ショウジョウバエ UNC-104 に自己抑制を解除する変異を導入すると、mass photometry においても安定した二量体構造が検出され、運動性の上昇が観察された。以前の報告で機能欠失型変異として報告された bris 変異についても 2 量体化と運動性の上昇が観察された。

Kid についても、局所濃度に応じて二量体化することがわかった。Kid については DNA の輸送を in vitro 再構成することに成功した。