

Title	Identification of novel Kinesin-like protein KIF1B beta isoforms and isoform-specific cargoes
Author(s)	松下, 昌史
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/45641">https://hdl.handle.net/11094/45641</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	まつした 慧史
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 19221 号
学位授与年月日	平成 17 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科生物科学専攻
学位論文名	Identification of novel Kinesin-like protein KIF1B beta isoforms and isoform-specific cargoes (キネシン様タンパク質 KIF1B beta のアイソフォームとその機能)
論文審査委員	(主査) 教授 金澤 浩 (副査) 教授 河村 悟 助教授 荒田 敏昭

### 論文内容の要旨

高等真核生物の細胞内では、微小管に沿って行われる細胞内輸送が、細胞の機能を維持する上で重要な役割を果たしている。その輸送を担うのがネシン・ダイニンといったモーター蛋白質群である。この内、キネシンは哺乳動物においては 40 種類以上存在するが、それぞれがどのような積荷を運んでいるか大半は明らかではない。また、積荷となるオルガネラ等の動きとモーター分子の性質との関連性についてもほとんど未知の状態である。このように、細胞内輸送において微小管モーターの重要性はさまざまな局面で指摘されているにもかかわらず、その個々の仕組みには多くの不明な点が残されている。

我々は、 $\text{Na}^+/\text{H}^+$  交換輸送タンパク質 NHE ファミリーの活性制御等に園与するタンパク質 CHP (Calcineurin B homologous protein) の機能解析を行ってきた。この CHP の結合タンパク質の一つとして、ラット脳からキネシン様タンパク質 KIF1B $\alpha$  の新規アイソフォーム KIF1B $\beta$ 2 を同定した。さらに KIF1B $\beta$ 2 とは 3 か所の配列の違いがある KIF1B $\beta$ 3 を見出した。この二つのモータータンパク質には細胞内輸送において異なった役割が存在するのかが興味深い問題であると考えた。そこで KIF1B $\beta$ 2 と KIF1B $\beta$ 3 の細胞内での積荷やモーターとしての性質の解析を行った。

#### 1. 組織分布の異なるスプライシングアイソフォーム、KIF1B $\beta$ 2/3 の発見

KIF1B のアイソフォームを広く認識する汎 KIF1B 抗体を作成し、ラットでの組織分布の解析を行った結果、既知の KIF1B $\alpha$  (130 kDa) とは分子量の大きく異なる 200 kDa (KIF1B $\beta$ 2) および 190 kDa (KIF1B $\beta$ 3) のタンパク質が検出された。組織分布には違いが見られ、200 kDa の KIF1B $\beta$ 2 は脳でのみ発現し、約 190 kDa の KIF1B $\beta$ 3 は脳以外の組織で発現していた。アミノ酸配列上、KIF1B $\beta$ 3 は KIF1B $\beta$ 2 と比較して 3 か所の配列の欠落が見られるほかは、全く一致しており、同一遺伝子に由来するスプライシングアイソフォームであることが明らかになった。

#### 2. KIF1B $\beta$ 2/3 の細胞内での積荷の同定

KIF1B $\beta$ 2 および KIF1B $\beta$ 3 の細胞内での積荷は不明であるので、それぞれについて積荷の同定を行った。その結果、KIF1B $\beta$ 2 はシナプス小胞マーカータンパク質である Synaptophysin との共局在が観察され、シナプス小胞あるいはその前駆体の輸送に関与することが示唆された。次に非神経細胞型アイソフォーム KIF1B $\beta$ 3 の積荷を明らかに

するために、このアイソフォームが発現している培養細胞を用いて解析を行った。その結果、KIF1B $\beta$ 3の積荷はリソソームであること、およびKIF1B $\beta$ 3はリソソームの細胞辺縁方向への移動に関与していることが明らかとなった。

### 3. アイソフォーム間の配列の違いとモーター活性

KIF1B $\beta$ 2およびKIF1B $\beta$ 3のモータードメイン近辺には、2か所にスプライシングによる配列上の差異が存在する。この領域はキネシン様タンパク質に機能上重要であることが示唆されている。そこで、この挿入配列の有無の違いをもったタンパク質を作成し、微小管依存のATPase活性を測定した。その結果、挿入配列の付加によって微小管依存ATPase活性の回転数や見かけの微小管との親和性が上昇することが明らかになった。スプライシングにより生じた配列の差が、細胞内で積荷を輸送する能力に違いをもたらしている可能性が示唆された。

以上、本研究ではこれまでに注目されていなかったスプライシングによるキネシン様モータータンパク質の挿入配列の違いに着目し、組織分布や局在、活性に違いがあることを初めて明らかにした。

## 論文審査の結果の要旨

申請者の松下氏は、博士前期後期課程を通じて、氏の所属する研究室で新規に発見したモーター蛋白質キネシンについてその動物における存在部分について組織や細胞内のレベルで研究してきた。その結果当該キネシンにはスプライシングによって生ずるアイソフォームが存在し、それぞれ臓器特異に存在することを発見した。その一つは神経細胞にあり、また残りの1つは神経以外の細胞に広く存在することを見いだした。さらに非神経細胞では、細胞内のリソソームを輸送することを初めて示した。また、スプライシングによる構造の異なるアイソフォームではモーター機能の指標となるATPase活性が大きくことなることも発見した。アイソフォームによる機能や局在がことなる例は、キネシンではほとんど知られておらず、重要な発見である。これらの成果は学術雑誌2編に発表している。

この成果について主査、副査で予備的審査を行いさらに公開の本審査をおこなった結果、審査員全員で博士学位に値する内容の研究成果と判断した。