

【目的】 モータータンパク質の一つであるキネシンは細胞内において微小管プラス端方向すなわち順行性の積み荷（カーゴ）輸送に携わる。キネシンは直接あるいはアダプタータンパク質を介して間接的にカーゴ膜と相互作用することが知られている。脂質膜との相互作用がキネシンの運動活性にどのような役割を果たすのかはこれまで明らかにされていない。当研究ではキネシンスーパーファミリーのうち神経特異的に発現しシナプス小胞輸送に携わることが知られている KIF1A に着目した。KIF1A と膜脂質との相互作用がどのように調節されているか、またその相互作用とモーター活性の関係性を明らかにするため精製 KIF1A タンパク質を用いた生化学的な解析を行った。

【方法】 ヒト KIF1A 全長タンパク質を精製し解析に用いた。C 末端に蛍光タンパク質である mScarlet、またアフィニティー精製のための Strep II タグを付加した KIF1A を Bac to Bac システムを用いて昆虫細胞 (Sf9 細胞) で発現した。細胞を可溶化後 Strep II によるアフィニティー精製を行った。得られたタンパク質を用いてゲル濾過クロマトグラフィー、SDS-PAGE を行った。また KIF1A タンパク質の分子会合状態を明らかにするため Mass Photometry 法による解析を行った。

【結果】 野生型 KIF1A は小胞膜と殆ど相互作用しない一方、モータードメインを欠損した変異体である KIF1A Δ MD は小胞膜と相互作用することがこれまでに報告されてきた。今回の解析により野生型 KIF1A が単量体と二量体の平衡状態であること、野生型 KIF1A と異なり KIF1A Δ MD は安定な二量体を形成することが明らかとなった。二量体形成は KIF1A の微小管上の運動においても重要である。一連の結果から、膜脂質がカーゴ膜上への活性型 KIF1A の選択的リクルートに働くことが示唆された。

カーゴ膜との相互作用とモーター活性の制御

