

MKLP1 と Arf6 複合体の機能・構造解析

The function and structure of MKLP1-Arf6 complex

牧尾尚能¹、武井朋美²、正親美菜子²、川崎政人¹、上久保裕生³、加藤龍一¹、
申惠媛^{2,4}、片岡幹雄³、中山和久²、若槻壮市¹

¹高エネルギー加速器研究機構 物質構造科学研究所、²京都大学大学院 薬学研究科、³奈良先端科学技術大学院大学 物質創成科学研究科、
⁴京都大学 生命科学系キャリアパス形成ユニット

細胞質分裂(cytokinesis)の最終段階では、分裂する細胞の間に、収縮環(contractile ring)の絞込みに伴って分裂溝(cleavage furrow)が形成される。分裂溝では、中央紡錘体(central spindle)の重なりから成るフレミングボディ(Flemming body)が形成され、膜と中央紡錘体の切断が起きて細胞質分裂が完了する。

細胞質分裂が適切に進むためには、フレミングボディの形成と共に、細胞内からの膜の供給も必要である。近年、細胞質分裂の完了には、微小管上に存在するキネシンファミリーのタンパク質の MKLP1 (Mitotic Kinesin-Like Protein 1)と RhoGAP ドメインを持つ CYK-4 から成る Centralspindlin と呼ばれる複合体の形成、および Rab11 と FIP3 陽性のリサイクリングエンドソームによるフレミングボディへの膜供給が重要であることが報告されている。

Arf6 (ADP-ribosylation factor 6) は、ARFファミリーに属する低分子 GTP 結合タンパク質であり、GTP/GDP 結合型の違いによって細胞内局在を変化させると共に、相互作用する相手分子を変える。Arf6 は、MKLP1 と GTP 依存的に相互作用すること、また FIP3 とも相互作用することが報告されている。このことは、Arf6 と MKLP1、および Arf6 と FIP3 との相互作用が、細胞質分裂において重要な役割を果たす可能性を示唆する。

今回、我々は、ヒト由来の Arf6 (Q67L, GTP 結合型変異体) と、エフェクター分子である MKLP1 の C 末端 Tail ドメインの複合体について構造解析を行った。Native およびセレノメチオニン置換体について結晶化を行い、PF の NW12A および BL5A ビームラインにおいてデータを収集した。Arf6 をサーチモデルとした分子置換法とセレノメチオニンによる SAD 法を組み合わせることによって、MKLP1-Arf6 複合体の結晶構造を分解能 2.8Å で解いた。この結果を踏まえ、結晶構造における、MKLP1-Arf6 複合体が 2 量体であることを、X 線小角散乱とケミカルクロスリンクを用いて確認した。また、MKLP1 と Arf6 の相互作用に重要な残基の変異体を構造から特定し、細胞質分裂に及ぼす影響を見たので、ここに報告したい。