



Title	Class I myosins direct chiral F-actin flows through the loop motifs in their head domains
Author(s)	山口, 明日香
Citation	大阪大学, 2026, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/105662
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏 名 (山 口 明 日 香)

論文題名

Class I myosins direct chiral F-actin flows through the loop motifs in their head domains
 (クラスIミオシンは、ヘッドドメインに存在するループモチーフを介して、キラルなFアクチンの流れを誘発する)

論文内容の要旨

多くの生物は、遺伝的に決定された左右非対称な構造をもち、その形成機構は多様であるが、いまだ未解明な部分が多い。本研究では、ショウジョウバエを用いて、特に理解が進んでいない無脊椎動物における左右非対称性形成機構の解明を目指した。先行研究より、ショウジョウバエ胚後腸の左右非対称性は、後腸上皮細胞がキラルな形態をとる（細胞キラリティを示す）ことで形成されることが示されている。また、I型ミオシンをコードする *Myosin1D*

(*Myo1D*) の突然変異体や、別のI型ミオシンである *Myosin1C* (*Myo1C*) の後腸上皮過剰発現個体では、後腸および後腸上皮細胞のキラリティが鏡像化する。したがって、消化管キラリティの鏡像関係を右手型（野生型）と左手型（鏡像型）とすると、*Myo1D*は右手型、*Myo1C*は左手型を決定する因子であると考えられる。しかし、これらのI型ミオシンがどのように細胞および器官のキラリティを決定しているかは不明である。そこで本研究では、I型ミオシンによる細胞および器官のキラリティ形成機構の解明を目的とした。

I型ミオシンはアクチンフィラメントのモータータンパク質であり、F-アクチン動態を制御することが知られている。そこで、I型ミオシンとF-アクチンの相互作用によって細胞キラリティが誘発されるという仮説を立て、その検証を行った。まず、細胞内アクチン流動のキラリティを解析するため、ショウジョウバエマクロファージの *ex vivo* 培養系および、細胞質内と同等のアクチン濃度を再現した改良型 *in vitro* motility assay の2つの解析系を確立した。その結果、マクロファージにおいて、*Myo1C*は反時計回り（左手型）、*Myo1D*は時計回り（右手型）の周方向アクチン流動を誘導することが明らかとなり、両者が細胞レベルで明確に異なるキラリティを実装していることが示された。

さらに改良型 *in vitro* motility assay の観察から、*Myo1D*は自己組織化的にリング状のF-アクチン束（アクチンキラルリング）を形成し、それを時計回りに回転させる能力を有することが明らかとなった。一方、*Myo1C*は同条件下で秩序だったリング構造を形成せず、F-アクチン束はランダムな流動を示した。I型ミオシンがF-アクチンをマイナス端方向にのみ移動させる性質をもつことから、*Myo1D*がF-アクチンの極性を時計回りに揃えることで、細胞内アクチン流動の方向性を規定している可能性が示唆された。

加えて、*Myo1C*と*Myo1D*の機能差の分子基盤を明らかにするため、F-アクチン結合界面に位置するヘッドドメイン内のループモチーフに着目し、両者間でループを交換したキメラミオシンを作製した。その結果、*Myo1D*に*Myo1C*由来ループを導入すると左回りキラリティが誘導されたが、*Myo1C*に*Myo1D*由来ループを導入しても右回りキラリティは誘導されなかった。これらの結果から、*Myo1C*のループモチーフは左回りキラリティを規定するのに十分である一方、*Myo1D*のループモチーフ単独では右回りキラリティを規定するには不十分であることが示された。

以上より、本研究は、I型ミオシンが、ループモチーフを介して、細胞内F-アクチン動態をキラルに制御することで細胞キラリティを生み出し、これが器官レベルの左右非対称性形成へとつながる分子基盤を示した。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 （ 山 口 明 日 香 ）			
論文審査担当者	(職)		氏 名
	主 査	教授	松野 健治
	副 査	教授	石原 直忠
	副 査	教授	昆 隆英

論文審査の結果の要旨

多くの生物は、遺伝的に決定された左右非対称な構造を有しており、その形成機構は多様であるが、いまだ未解明な部分が多い。本博士論文では、ショウジョウバエをモデル生物として用い、特に理解が進んでいない無脊椎動物における左右非対称性形成機構の解明を目的として研究が行われた。先行研究により、ショウジョウバエ胚後腸の左右非対称性は、後腸上皮細胞がキラルな形態をとる（細胞キラリティを示す）ことによって形成されることが示されている。また、後腸の左右非対称性および後腸上皮細胞のキラリティは、I型ミオシンをコードする *Myosin1D* (*Myo1D*) の突然変異体、ならびに別の I 型ミオシンをコードする *Myosin1C* (*Myo1C*) を後腸上皮で過剰発現させた個体において、鏡像化することが報告されている。したがって、消化管キラリティの鏡像関係を右手型（野生型）および左手型（鏡像型）と定義すると、*Myo1D* は右手型、*Myo1C* は左手型を決定する因子であると考えられる。これらのタンパク質が F アクチンとの相互作用を介して機能することは知られているものの、その相互作用がどのようにしてキラリティを規定するのかについては不明であった。本博士論文は、その分子機構の一端を解明することを目的としている。

本博士論文では、ショウジョウバエマクロファージのプライマリー培養系を用い、*Myo1D* および *Myo1C* が、それぞれ右回りおよび左回りのキラリティを有する細胞内 F アクチン流動を誘発することを明らかにした。また、キラルな F アクチン流動の誘発には *Myosin2* (*Myo2*) が必要であることを示した。さらに、*in vitro* motility assay を用いた解析により、*Myo1D* が F アクチンを自己集合させ、右回りに回転するリング状構造を形成することを示した。この構造が、マクロファージにおける右回りの F アクチン流動の分子的起源となる可能性が示唆された。これらの知見に基づき、細胞キラリティ形成を分子レベルで説明する新たなモデルが提唱された。

細胞や器官のキラリティは、*Myo1D* および *Myo1C* のモータードメインに依存して形成される。本博士論文では、これら二つの I 型ミオシンのモータードメインに存在するキラリティの根源となるモチーフを同定することを目的とした研究を行った。アクチン結合部位に存在し、F アクチン動態を直接制御する可能性が高いループ構造に着目し、*Myo1D* と *Myo1C* のループを相互に置換したキメラミオシンを作製し、その活性を解析することで、キラリティ誘導能に必要十分な領域の特定を試みた。その結果、*Myo1D* の 4 つすべてのループを *Myo1C* 由来のものに置換すると、胚後腸の左右非対称性形成およびマクロファージ細胞における F アクチン動態のキラリティが、右手型から左手型へと反転することが示された。これらの結果は、ループが、キラリティを規定する構造モジュールとして機能していることを示唆するものである。

これらの研究成果は、細胞生物学、発生生物学研究において新しい見解をもたらしたのみならず、今後、この分野の研究の発展に寄与するもので、理學上貢献するところが大きい。よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。