

Title	ナノ操作による分子モーターの1分子力学測定
Author(s)	田中, 裕人
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40662
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"〉 大阪大学の博士論文について 〈/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	田中裕人
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第13972号
学位授与年月日	平成10年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 基礎工学研究科物理系専攻
学位論文名	ナノ操作による分子モーターの1分子力学測定
論文審査委員	(主査) 教授 柳田 敏雄 (副査) 教授 葛西 道生 教授 佐藤 俊輔

論文内容の要旨

本研究においては、分子モーター（ミオシン）の動作原理を解明するため、ステップサイズの測定といった方向からアプローチした。ステップサイズとは1分子のミオシンが1ATPを分解する間に進む距離のことであり、ミオシンの動作原理を理解する上で非常に重要なパラメータである。これまでに1分子レベルでのステップサイズの測定がなされてきたが、異なる2つの値が報告され、はっきりとした値は求まっていない。第1の研究では、そのステップサイズを1分子レベルで測定するため、光ピンセットを用いミオシン1ヘッドの発生する変位をnm精度で測定した。その結果、生体中と同様に正しい方向でアクトミオシンが相互作用した場合、そのステップサイズは15nmであるという結果を得た。この値は、ミオシンの3次元構造から予想されるヘッドの動き（ ~ 5 nm）よりもかなり大きく、滑り運動がヘッドの構造変化（首振り）によるものではないことを示唆している。また、アクトミオシン相互作用の角度に依存して、このステップサイズが変化する（15 \sim 3 nm）ことが示され、これまで報告されていた矛盾する結果を説明することができた。第2の研究では、ミオシンヘッドの回転方向の運動を調べた。ステップサイズの角度依存性とミオシンの回転運動を合わせて考慮すると、ミオシンヘッドは回転方向の運動が制限されているため、アクトミオシンの接触する角度が変化するとその相互作用に歪みが生じ、ステップサイズが小さくなったと考えられる結果が得られた。しかも、アクトミオシンの相互作用は、鍵と鍵穴の関係のようなものではなく、アクチンに対するミオシンの向きが180°逆向きでも相互作用が可能なような柔らかいメカニズムであることが示唆された。第1の研究において、ミオシン1分子のステップサイズが15nmという結果が得られたが、この値は多分子の系から見積もられたステップサイズ（ >60 nm）と比較するとかなり小さいといえる。この相違の原因には、様々な可能性が考えられるが、そのメカニズムに対する1つのアプローチとして、第3の研究ではアクトミオシンが相対的に滑走中における、ミオシン1ヘッドのステップサイズの測定を試みた。その結果、 $2 \mu\text{m/s}$ で滑走中のステップサイズが約60nmであることがわかった。以上のことを考慮すると、ミオシンは1つのATPを分解する間に、アクチンと結合解離を繰り返しながら5-10nm程度の小さな変位を繰り返し発生し、大きな距離を滑走することが考えられる。他には、アクトミオシンが相対的に滑り運動を起こしていると、その相互作用の様式に変調がかかり大きな距離を滑る可能性も考えられる。いずれの場合にも、アクトミオシンの動作メカニズムが単純なミオシンヘッドの首振り（構造変化）とは考えにくく、新しい柔軟な動作メカニズムの存在を示唆する結果が得られた。

論文審査の結果の要旨

本論文では、分子モーター（ミオシン）の動作原理を解明するため、ステップサイズの測定といった方向からアプローチした結果を報告している。ステップサイズとは1分子のミオシンが1ATPを分解する間に進む距離のことであり、ミオシンの動作原理を理解する上で非常に重要なパラメータである。これまで1分子レベルでのステップサイズの測定がなされてきたが、異なる2つの値が報告され、はっきりとした値は求まっていない。第1の研究では、そのステップサイズを1分子レベルで測定するため、光ピンセットを用いミオシン1ヘッドの発生する変位をnm精度で測定した。その結果、生体中と同様に正しい方向でアクトミオシンが相互作用した場合、そのステップサイズは15nmであるという結果を得た。この値は、ミオシンの3次元構造から予想されるヘッドの動く（ $\sim 5\text{nm}$ ）よりもかなり大きく、滑り運動がヘッドの構造変化（首振り）によるものではないことを示唆している。また、アクトミオシン相互作用の角度に依存して、このステップサイズが変化する（ $15\sim 3\text{nm}$ ）ことが示され、これまで報告されていた矛盾する結果を説明することができた。第2の研究では、ミオシンヘッドの回転方向の運動を調べた。ステップサイズの角度依存性とミオシンの回転運動を合わせて考慮すると、ミオシンヘッドは回転方向の運動が制限されているため、アクトミオシンの接触する角度が変化するとその相互作用に歪みが生じ、ステップサイズが小さくなったと考えられる結果が得られた。しかも、アクトミオシンの相互作用は、鍵と鍵穴の関係のようなものではなく、アクチンに対するミオシンの向きが 180° 逆向きでも相互作用が可能なような柔らかいメカニズムであることが示唆された。第1の研究において、ミオシン1分子のステップサイズが15nmという結果が得られたが、この値は多分子の系から見積もられたステップサイズ（ $>60\text{nm}$ ）と比較するとかなり小さいといえる。この相違の原因には、様々な可能性が考えられるが、そのメカニズムに対する1つのアプローチとして、第3の研究ではアクトミオシンが相対的に滑走中における、ミオシン1ヘッドのステップサイズの測定を試みている。その結果、 $2\mu\text{m/s}$ で滑走中のステップサイズが約60nmであることがわかった。以上のことを考慮すると、ミオシンは1つのATPを分解する間に、アクチンと結合解離を繰り返しながら5-10nm程度の小さな変位を繰り返し発生し、大きな距離を滑走することが考えられる。他には、アクトミオシンが相対的に滑り運動を起こしていると、その相互作用の様式に変調がかかり大きな距離を滑る可能性も考えられる。いずれの場合にも、アクトミオシンの動作メカニズムが単純なミオシンヘッドの首振り（構造変化）とは考えにくく、新しい柔軟な動作メカニズムの存在を示唆する結果が得られた。これらの結果は、モータータンパク質の動作メカニズムを考える上で非常に重要な情報であり、本論文は博士学位論文として価値あるものと認める。