

Title	車軸藻ミオシンの高速滑り運動のメカニズム
Author(s)	木村, 祐史
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/45041">https://hdl.handle.net/11094/45041</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">〈a href="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">〈/a〉</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	木村祐史
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第18070号
学位授与年月日	平成15年7月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 基礎工学研究科システム人間系専攻
学位論文名	車軸藻ミオシンの高速滑り運動のメカニズム
論文審査委員	(主査) 教授 柳田 敏雄 (副査) 教授 若林 克三 教授 山本 亘彦

#### 論文内容の要旨

車軸藻の節間細胞内では、原形質流動がアクチンフィラメントの束に沿って引き起こされており、その速度は30-100  $\mu\text{m/s}$  である。車軸藻ミオシンがこの原形質流動の原動力となっている。節間細胞より精製した車軸藻ミオシンは *in vitro motility assay* によりアクチンフィラメントを最大で60  $\mu\text{m/s}$  の速度で滑り運動させる。この滑り速度は、最も運動に適するように進化してきたはずである動物の骨格筋ミオシンの滑り運動速度より10倍以上速い。この車軸藻ミオシンの高速滑り運動のメカニズムを解明するため、本研究では光ピンセット法による車軸藻ミオシンの1分子力学測定を行った。その結果、車軸藻ミオシンの変位の大きさは18 nm であることがわかった。また、変位の継続時間からADPのアクトミオシンからの解離反応の速度定数 ( $k_{-D}$ ) とATPの結合反応の速度定数 ( $k_T$ ) を見積もると、それぞれ  $10\text{ s}^{-1}$ 、 $1.1 \times 10^7\text{ M}^{-1}\text{ s}^{-1}$  であった。変位の大きさ、 $k_{-D}$ 、 $k_T$  より飽和ATP濃度 (1 mM) における車軸藻ミオシンの滑り速度を計算すると $\sim 0.2\text{ }\mu\text{m/s}$  となり、高速滑り運動を説明できない。これは  $k_{-D}$ 、つまりADPの解離反応が律速となるためである。しかし、変位継続時間を負荷にたいして解析すると、負荷が小さくなればADPの解離反応速度は小さくなることがわかり、その関係は負荷が負の領域(アクチンフィラメントの進行方向にミオシンが引っ張られる)まで保たれていた。したがって、*in vitro motility assay* のように多分子のミオシンが一本のアクチンフィラメントに同時に相互作用できる系では、力を出し終わり、ADPを結合している状態のミオシンはアクチンフィラメントを介して他のミオシンから“負”の負荷を受けることでADPを速やかに放出し、次の反応サイクルに移ることができると考えられる。以上のように、車軸藻ミオシンは1分子では速い滑り運動を実現することができないが、多分子になって初めて高速滑り運動を実現できると考えられる。

#### 論文審査の結果の要旨

細胞の原形質流動に携わるクラス11ミオシン(以下ミオシン11)は、*in vitro motility assay* において、アクチンフィラメントを60  $\mu\text{m/s}$  という速度で滑り運動させる。この滑り速度は、これまで研究されてきた骨格筋のミオシンの滑り速度の約10倍にあたるため、ステップサイズ・分子メカニズムの議論とあわせ、その高速運動メカニズム解明が注目されていた。本論文においては、1分子測定という技術を用いて、この高速運動メカニズムに素過程から直

接アプローチし、高速滑り運動を引き起こすためには、アクチンフィラメントを介したミオシン分子間のコミュニケーションが非常に重要であるという結論を得た。以下に論文内容を要約する。

ミオシンは ATP の化学エネルギーを使って滑り運動を行う。その過程は、ATP のミオシンへの結合、ミオシン・ATP のアクチンへの結合、ATP の加水分解 (ADP、Pi) および滑り運動発生、アクチン・ミオシン・ADP 複合体からの ADP の乖離、となっている。ミオシン 11 での、この運動発生サイクルの詳細解明を目指し、光ピンセットを用いた 1 分子判定系を用いて、ミオシン 11 1 分子の変位・結合時間をナノメートル・ミリ秒の分解能で測定した。その結果、結合時間を決定する ADP の乖離過程が、ミオシンにかかる負荷に依存して、大きく変化することがわかった。ADP の乖離速度は負荷 (この場合ミオシンが引っ張られる力) が小さくなると速くなり、さらに負の負荷 (この場合ミオシンが押される力) でさらに速くなることがわかった。この結果から議論すると、*in vitro motility assay* 系のよりに複数のミオシン分子が、一本のアクチンフィラメントに同時に相互作用している場合、変位発生後のミオシンはアクチンフィラメントを介し、負の負荷 (この場合押されること) を受けることにより、ADP 乖離過程を促進し、高速滑り運動を実現していると考えられる。つまり、高速運動メカニズムにとって、アクチンを介してのミオシン間の、分子間コミュニケーションが重要であると結論づけている。

以上のように、1 分子測定からシステム (分子間コミュニケーション) への直接アプローチという意味で、本論文は非常に重要な意義を持っている。したがって、本論文は博士 (理学) の学位論文として価値のあるものと認める。