

Title	1分子ナノ操作を用いたミオシンVのメカニズム研究
Author(s)	岡田, 拓也
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/46736">https://hdl.handle.net/11094/46736</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	岡田拓也
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 20450 号
学位授与年月日	平成 18 年 3 月 24 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	1 分子ナノ操作を用いたミオシン V のメカニズム研究
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

ミオシン V は、アクチンフィラメント上を ~36 nm のステップで連続して動き、長い距離を滑走するプロセッシブモーターである。現在、ミオシン V は、cross-bridge tilting モデルに基づいたハンドオーバーハンドモデルでアクチンフィラメント上に沿って歩くことが提唱されている。しかしながら、ネックドメインの部分を短くしたミオシン V の変異体は、野生型ミオシン V と同様に大きなステップで連続的に動くことが出来るということが報告されている。この結果は、今までの解釈では説明することが出来ない。これまでの研究では、ステップの発生過程は観察できていない。

本研究では、走査プローブ顕微鏡を用いて、詳細なメカニズムに迫るため、単頭ミオシン V の計測をおこなった。ネックドメイン長の異なる 2 つの単頭ミオシン V を遺伝子工学的に作製した。ミオシン V の N 末側に GFP、C 末側に Myc タグを融合した。Myc の抗体を介して、ミオシン V を走査プローブの先端に安定に結合させた。1 分子イメージング法によって GFP を可視化することで、走査プローブの先端についたミオシンが 1 分子であることを確認した。

その結果、ミオシン V は、1 つの ATP を加水分解する間に、複数回の ~5.5 nm のサブステップでアクチンフィラメント上を動くことがわかった。ネックドメインの長さを変えても (2IQ から 6IQ)、~5.5 nm のステップサイズも変わらず、トータルのステップの数も変化しないことを直接検証した。このことから、ネックドメインの長さは、~5.5 nm のサブステップと無関係であるということがわかった。

また、これまでの広く支持されて来た cross-bridge tilting モデルからきている単純なハンドオーバーハンドモデルを元にして、高負荷時のミオシン V のステップ発生速度を考えたときに、説明に矛盾が生じてしまう。本研究の結果から得られた動作メカニズム内の知見、つまりバイアスブラウン運動に基づいて、この矛盾に対する定量的な説明に成功した。

#### 論文審査の結果の要旨

生体のシステムにおいて、ミオシンの動きは重要である。結晶構造に基づいて、ミオシンのヘッドのネックドメイ

ン動きを作るために傾くという、レバーアーム tilting モデルが、筋収縮のメカニズムとして提唱されている。溶液中において、ネックドメインが構造変化するという証拠は数多くあるが、レバーアームモデルから期待される大きな構造変化は、筋収縮中は観察されていない。最近ミオシンの動作メカニズムの研究は、細胞内でオルガネラを輸送する、非筋のプロセシブモーターに移っている。これらのミオシンのステップサイズが、大きく連続的に起こるので、測定が簡単であるからである。ミオシンVの動作メカニズムとして、レバーアーム tilting モデルに基づいたハンドオーバーハンドモデルが提唱されている。しかしながら、これらの結果は、時間的分解能が悪い（サブ秒）。ミオシンのステップの前の状態と後の状態を観察しており、ステップのプロセスを観察していない。本研究において、ミオシン-Vステップのプロセスを直接観察するために、走査プローブ顕微鏡を用い、相対的に大きな走査プローブにヘッドをつけることによって、動きを遅くすることで、ミオシンのステップを検出することに成功している。1分子の単頭ミオシン-Vのヘッドは、ステップ状変位でアクチンフィラメント上を動いているということがわかった。そのサブステップのサイズは、5.5 nm でアクチンモノマーのサイズと合っていた。さらに、サブステップのサイズは、ネックドメインの長さによらなかった。本研究の結果は、ミオシンVがアクチン分子上をバイアスブラウン運動を進んでいるという新しい運動メカニズムを提唱している。したがって、本論文は博士号（理学）の学位論文として価値あるものと認める。