The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	１分子ナノ計測法を用いた単頭ミオシンの長距離運動メカニズムの研究
Author(s)	岩城, 光宏
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46801
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、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

【101】

氏　　名	岩城光宏（いわき みつひろ）
博士の専攻分野の名称	博　士（理　学）
学位記番号	第　２０４４８　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分子ナノ計測法を用いた単頭ミオシンの長距離運動メカニズムの研究**
論文審査委員	（主査） 教　授　若林　克三 （副査） 教　授　柳田　敏雄　　教　授　野村　泰伸

論文内容の要旨

ミオシンVIはエンドサイトーシスに関与し、アクチンフィラメント上を１方向に連続的に運動することによって小胞輸送するモーター蛋白質である。これまで知られている小胞輸送モーターのミオシンVとの類推から、ミオシンVIは双頭構造であり、レバーアームモデルに基づいた運動を行うことによって、小胞輸送に必要な長距離（連続）運動を行うと予想された。しかし、ミオシンVIは単頭構造で存在し、連続的な運動能を疑問視する結果が報告された。本研究では、どのようにして単頭ミオシンVIが長距離運動を行うのかを目的に、ミオシンVIの１分子計測を行った。

GFP を融合したミオシンVIの１分子イメージングを行ってもアクチン上の連続的な運動は観察されなかったが、ミオシンVIの小胞結合部位にポリスチレンビーズ（小胞と同程度の大きさ）を結合させてレーザートラップを用いたナノ計測を行うと、平均 100 nm 程度の連続的な運動が観察できた。さらには、細胞内のような高粘性溶液中では、平均 400 nm 程度まで連続的な運動が観察された。連続的な運動頻度の統計解析、ビーズに結合した GFP ミオシンVIの１分子イメージングによる解析から、連続的な運動は単頭ミオシンVI１分子が持つ特性であることが本研究によって示された。すなわち、ミオシンVIは単頭構造であっても連続的な運動能を持ち、１分子で小胞輸送を行う能力を持っていることが明らかになった。

ミオシンVIが単頭構造で連続的に運動することは、従来のレバーアームモデルおよびそれに基づいたハンドオーバーハンドモデルを適用できないことを意味する。そこで、本研究の結果を基にして新たな運動モデルを構築した。このモデルでは、ミオシン分子は、アクチンフィラメントから拡散されないようにすれば連続的な１方向運動ができる。また、レバーアームモデルのようにミオシン頭部の構造変化を直接的に運動に変換するのではなく、ミオシン分子のランダムなブラウン運動から１方向性を選択することによって運動に変換している。モデルの検証を行ったところ、実験結果を定量的によく説明することができた。

論文審査の結果の要旨

モーター蛋白質は細胞運動、小胞輸送、筋収縮、DNA 情報の転写などの様々な運動の主役を担っている重要な蛋白質である。しかしながら、その機能発現メカニズムの原理は明らかにされていない。本論文では、１分子イメージ

ングおよび１分子力学計測法を用いて、モーター蛋白質の１つであるミオシンVI分子の運動機能解析に成功し、生理的機能発現メカニズムおよび分子メカニズムに関して重要な知見を明らかにしている。

ミオシンVI分子は、細胞内において、アクチンフィラメント上を連続的に１方向運動することにより小胞輸送を行っている。そのために、ミオシンVI分子は、他の小胞輸送ミオシンと同様に運動機能部位を２つ持った構造を持ち、歩くように運動すると考えられてきた。しかしながら、ミオシンVIは運動機能部位を１つしか持たず、小胞輸送できるほどの長い距離を運動できないことが報告され、小胞輸送がどのようにして行われているのかは明らかにされていなかった。

本論文では、小胞を模したポリスチレンビーズをミオシンVI分子に結合させて、細胞内と同様にネットワーク構造を持つ高粘性環境を作ると、小胞輸送を行うことが可能なだけの十分長い（数μm）距離を連続的に運動できることを再構成系によって発見した。これらの結果は、ミオシンVI分子は細胞内の環境をうまく利用することによって、生理的機能を行なっていることを示している。

ミオシン分子を含めたモーター蛋白質の機能発現の分子メカニズムは、構造変化が直接的に運動に変換されるモデルで説明されることが多い。しかしながら、本論文で得られた新たな知見は、上記モデルで説明することはできない。本論文では、１分子ナノ計測法を用いて、ミオシンVI分子の運動特性の詳細な解析を行なっている。その結果を基にして新たな運動モデルを構築し、定量的に実験結果をうまく説明することに成功している。そのモデルでは、ミオシン分子に結合した大きな小胞と不均一拡散溶媒であるネットワーク構造が、ミオシン分子をアクチンフィラメント近傍に留めておきながらも速い結合解離を可能にするという効果を実現する。また、ミオシン分子が、自身のランダムなブラウン運動から１方向性を選択することによって１方向性運動を行う。このモデルは従来のモデルで説明できなかった過去の結果も含めて統一的に説明が可能であり、モーター蛋白質の機能発現の分子メカニズムに普遍的に適用できる可能性を持つ。

以上のように、従来の運動モデルを覆し、それに変わる統一的に実験結果を説明できる運動モデルを構築した本研究の成果が、モーター蛋白質の機能発現メカニズムの解明に大きく貢献していることは明白である。従って、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。