

Title	モータータンパク質の1分子力学
Author(s)	小嶋, 寛明
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	https://doi.org/10.11501/3129307
DOI	10.11501/3129307
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏 名 小 嶋 寛 明
 博士の専攻分野の名称 博士(工学)
 学位記番号 第 13277 号
 学位授与年月日 平成9年3月25日
 学位授与の要件 学位規則第4条第2項該当
 学位論文名 モータータンパク質の1分子力学

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

近年になって、マイクロニードルやレザートラップを用いることにより、ナノメートルオーダーの変位及びピコニュートンオーダーの力を検出する nm - pN 計測の技術が急速に発展してきた。この技術を用いると、モータータンパク質1分子の動きや、それが発生する力を直接測定することができる。そこで本研究ではこの手法を用いることにより、単一アクチンフィラメントの動的弾性率、及び微小管上を進むキネシン1分子の動きを高空間時間分解能で測定し、その結果からモータータンパク質の運動メカニズムに対して考察を行った。

アクチンフィラメントの弾性は、ガラスマイクロニードル法により測定を行った。実験では2本のニードルの間にアクチンフィラメントをトラップし、このときのニードルのサイン波応答を解析することにより、アクチンフィラメントの粘弾生を見積もった。その結果フィラメント1 μm 当たりの弾性定数は、アクチンフィラメント単独で $43.7 \pm 4.6 \text{ pN/nm}$ 、トロポミオシン分子を結合すると $65.3 \pm 6.3 \text{ pN/nm}$ (mean \pm SD) となることが分かった。また、20-500Hz の入力範囲では、アクチンフィラメントには粘性項の効果は現れなかった。この結果、ms オーダーの入力に対しては、アクチンフィラメントは単なるバネとして振る舞うことが示された。以上の結果を考慮すると、筋収縮時においてアクチンフィラメントは2 nm 近く伸びていることになる。この結果は、quick release の実験で張力をゼロにするのに必要な変位のほとんどが、ミオシンヘッド以外の部分の伸び縮みに由来するというを示している。これは筋収縮の分子メカニズムを説明するとして広く受け入れられている首振りモデルに深刻な影響を与える。すなわち、ミオシン分子が力を発生する際には、必ずしもその首を振るというような大きな構造変化をする必要がないということになる。

次に、モータータンパクが運動を行う際に、その2つの頭部は実際にどのように動いているのかを調べるために、微小管上でのキネシン分子の変位の様子を、レザートラップナノメトリーによって測定した。実験の結果、キネシン分子は8 nm をユニットとするステップ状の変位を行うことがわかった。また、あるステップが起こってから、次のステップが起こるまでの待ち時間 (Dwell time) を測定し、その分布をとると、単調に減少する形のヒストグラムが得られた。8 nm ステップがユニットであるという実験結果より、キネシン分子を歩行モデルとして、その2つの頭部は微小管の8 nm 周期にしたがって16nm ずつ交互に進むという16 - nm - stepping model、および8 nm ずつ進むという8 - nm - stepping model の2つの可能なモデルを提案した。この2つのモデルのどちらが実体に近いのかを検討するために、キネシンヘッドが1ステップを行う過程において、ヘッドにATPが結合する段階とステッ

プを行う段階の2段階反応が起こっていると仮定し、それぞれのモデルを用いてステップ状変位のシミュレーションを行った。それらより得られる Dwell time のヒストグラムと実験結果とを比較すると、8 - nm - stepping model ではヒストグラムにピーク生じたため、実験結果と一致させることができなかったが、16 - nm - stepping model では非常によい一致が得られた。すなわち、キネシン分子は hand - over - hand で微小管上を進んで行くことが示された。

論文審査の結果の要旨

生体運動を担っているモータータンパク質分子の機能を理解するためには、直接分子に触れ、操作し、その動きを観ることが非常に重要である。本論文には、モータータンパク質の発生するナノメートルオーダーの変位、ピコニュートンオーダーの力を計測する技術を用いることによって、その力学特性、及び運動特性を1分子レベルで直接測定した研究の成果がまとめられている。

本論文の内容は、大きく2つに分けられる。まず、第1章では筋収縮を司るアクチン系系の構成要素であるアクチンフィラメントの力学特性を分子レベルで詳しく検討し、その弾性及び粘性的性質を明らかにしている。これは、nm - pN 計測の技術を用いることにより初めて可能になったことである。測定により得られたアクチンフィラメントの弾性定数及び粘性的性質を考慮して解析を行うことにより、アクチンフィラメントは筋収縮に伴って大きく伸び縮みすることが示された。この結果は、アクチン系モーターが運動を行う際に、必ずしもミオシン分子が首を振って力を発生する必要がないということの意味しており、筋収縮の分子モデルとして広く受け入れられている首振りモデルを根本から見直す必要が出てきた。このことは、内外の研究者に非常に大きなインパクトを与えている。つぎに第2章では、微小管上を運動するキネシン1分子の動きをレーザートラップナノメトリーの手法によってナノメートルオーダーで検出し、キネシンがステップ状に微小管上を進んで行く様子を観測している。結果として、変位の単位ステップサイズは8 nm であり、あるステップが起きてから次のステップが起きるまでの待ち時間の分布は単調減少の形を示すことが明らかとなった。この結果をキネシン分子の2つの頭部の相互作用を考慮して解析することにより、キネシン分子の運動の際には、それらが交互に16nm ずつ前に進むことを明らかにしている。この様に、モータータンパク質に2つの頭部があることを考慮して詳しく解析を行った例は本研究が初めてであり、この結果が今後のモータータンパク質の研究に対して重要な問題提起となっていることは間違いない。

以上のように、本論文では新しい nm - pN 計測の技術を用いることにより、1分子レベルでタンパク質分子の特性をみることを可能にしている。測定の結果得られたデータは、既存の測定系では得られない貴重なものであり、そこから得られた知見は、モータータンパク質の運動メカニズムを考える上で非常に重要な情報源となっている。したがって本論文は博士論文として価値あるものと認める。