

Title	New fluorescence microscopy for simultaneous observation of 3D orientation and movement and its application to quantum rod-tagged myosin V
Author(s)	大町, 優史
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/59346
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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >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

【92】				
氏 名	おお	まち	まさ	し
	大	町	優	史
博士の専攻分野の名称	博 士（理学）			
学 位 記 番 号	第 2 5 4 5 7 号			
学 位 授 与 年 月 日	平 成 24 年 3 月 22 日			
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 生命機能研究科生命機能専攻			
学 位 論 文 名	New fluorescence microscopy for simultaneous observation of 3D orientation and movement and its application to quantum rod- tagged myosin V (1 分子 3 次元方位・位置同時計測のための新規蛍光顕微鏡の開発と量 子ロッド標識したミオシン V 計測への応用)			
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 柳 田 敏 雄 (副査) 教 授 井 上 康 志 教 授 平 岡 泰 教 授 山 本 亘 彦			

論 文 内 容 の 要 旨

Single molecule fluorescence polarization techniques have been used for three-dimensional (3D) orientation measurement to observe the dynamic properties of single molecules. However, only few techniques can simultaneously measure 3D orientation and position. Furthermore, this often requires complex equipment and cumbersome analysis. I have developed a new microscopy system and synthesized highly fluorescent, rod like shaped quantum dots (Q rods), which have linear polarizations, to simultaneously measure the position and 3D orientation of a single fluorescent probe. The optics splits the fluorescence from the probe into four different spots depending on the polarization angle and projects them onto a CCD camera. These spots are used to determine the 2D position and 3D orientation. Q rod orientations could be determined with better than 10° accuracy at 33 ms time resolution. I applied this microscopy and Q rods to simultaneously measure myosin V movement along an actin filament and rotation around its own axis, finding that myosin V rotates 90° for each step. From this result, I suggest that in the two-headed bound state, myosin V necks are perpendicular to one another, while in the one-headed bound state the detached trailing myosin V head is biased forward in part by rotating its lever arm about its own axis. This new microscopy system should be applicable to a wide range of dynamic biological processes that depend on single molecule orientation dynamics.

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文は蛍光標識したタンパク質1分子の3次元方位と位置の同時計測を行うための新規蛍光顕微鏡の開発に関するものである。従来の3次元方位計測法では複雑で精密な光学システムが必要であり、解析にも多くの時間を要する。本研究で開発された計測装置は蛍光プローブからの蛍光を偏光素子で4つの偏光成分に分割して、カメラに結像させるという非常に簡便な方位計測システムである。さらに本研究では高分解能で計測を行うために直線偏光を放出する半導体プローブである量子ロッドを作製し

て、それを初めて生体分子計測に応用し、細胞内輸送に関わるタンパク質であるミオシンVのステップ運動と方位変化を同時に観察することに成功した。計測の結果、ミオシンVはアクチンフィラメントを歩行運動する際に90°回転運動を行うという新しい結果を得た。この研究成果は細胞内でのミオシンの輸送メカニズムに重要な知見を与えるものである。本研究の3次元方位計測法は独創的でありかつ、その簡便さにより、広く生命科学の研究に寄与するものであると考えられる。以上のような点から本論文は学位の授与に値するものと認める。