

| | |
|--------------|---|
| Title | Left-right Myosin-Is, Myosin1C, and Myosin1D exhibit distinct single molecule behaviors on the plasma membrane of <i>Drosophila</i> macrophages |
| Author(s) | 宇都宮, 聡介 |
| Citation | 大阪大学, 2024, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/96403 |
| rights | |
| Note | やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。 |

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

論文内容の要旨

氏名 (宇都宮 聡介)

論文題名

Left-right Myosin-Is, Myosin1C, and Myosin1D exhibit distinct single molecule behaviors on the plasma membrane of *Drosophila* macrophages
 (左右非対称性に関わるI型ミオシンであるMyosin1CとMyosin1Dは、ショウジョウバエ貪食細胞の細胞膜上で異なる1分子動態を示す)

論文内容の要旨

左右非対称性は動物の発生において重要である。左右非対称性形成の機構は進化的に多様であり、特に、無脊椎動物においては、その分子機構は良く理解されていない。遺伝学、発生学研究に適したモデル動物であるキロショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*) では、左右非対称な器官形成が、細胞レベルのキラリティー (細胞キラリティー) に依存することが明らかになっている。2種類のクラスIミオシンであるMyosin1D (Myo1D) と Myosin1C (Myo1C) が、それぞれ、右手型 (野生型) と左手型 (鏡像) の細胞キラリティを決定する。他のグループの研究において、in vitro gliding assayにおいて、Myo1DがF-アクチンを左回りにカーブした軌跡で運動させることが示された。この研究から、左にカーブしたF-アクチンの運動が、右手型細胞キラリティを決定することが提唱された。一方、同じ条件で、Myo1CはF-actinを直進的に動かし、F-アクチンのキララな運動を誘発しない。このことから、F-アクチンのカーブ運動だけでは細胞キラリティ形成を説明するには不十分であり、細胞キラリティを決定する他の要素の存在が示唆されている。博士学位申請者は、Myo1DとMyo1Cが膜と相互作用することを考慮し、それらの膜動態の差が、右手型、左手型細胞キラリティを決定するMyo1DとMyo1Cの活性の差に関与していると予想した。そこで、Myo1DとMyo1Cの細胞膜上の動態の差異を検出、解析することが本研究の目的である。

一分子イメージングにより、細胞膜上で拡散するMyo1DとMyo1Cの一分子動態を解析した。Mean Square Displacement (MSD) 解析から、Myo1Cは細胞膜上でブラウン運動に近い拡散運動を示した。一方、Myo1Dでは、その拡散が制限されていることが明らかになった。また、Hidden Markov Model (HMM) による解析から、Myo1Cでは、拡散係数の値が小さい状態 (slow diffusion state) が、Myo1Dの場合よりも多いことが明らかにされた。MSD解析で見られたMyo1DとMyo1C拡散運動の違いは、slow diffusion stateが全体の中で占める割合の差を反映していると考えられ、MSD解析とHMM解析の結果に矛盾はなかった。

Myo1DとMyo1Cのキメラタンパク質や、ドメイン欠損タンパク質の一分子動態を解析すると、HMM解析で見られた拡散状態の差は、各ミオシンのheadドメインとtailドメインが細胞膜拡散に与える影響の違いに起因することが示唆された。headドメインはF-アクチンとの結合、tailドメインは膜脂質との結合に関与していることから、これらが拡散状態に影響している可能性が推測された。細胞膜からの解離のしやすさを定量した解離速度定数にミオシン間の差はなく、Myo1DとMyo1Cは互いの一分子動態に影響を与えていないことも示唆された。

先行研究から、Myo1DとMyo1Cは定常状態のATPアーゼの活性に10倍以上の差があると報告されている。F-アクチンとの結合時間にも大きな差があると推定されているが (Myo1D: 110 ms、Myo1C: 1 s)、これは本研究の結果とも矛盾しない。本研究で見られたMyo1DとMyo1Cの膜拡散の違いが、左右非対称性の形成における活性の差を反映している可能性が提唱された。

論文審査の結果の要旨及び担当者

| | | |
|--------------|-----|----------|
| 氏 名 (宇都宮 聡介) | | |
| 論文審査担当者 | (職) | 氏 名 |
| | 主 査 | 教授 松野 健治 |
| | 副 査 | 教授 昆 隆英 |
| | 副 査 | 教授 上田 昌宏 |

論文審査の結果の要旨

左右非対称性は動物の発生において重要である。左右非対称性形成の機構は進化的に多様であり、特に、無脊椎動物においては、その分子機構は良く理解されていない。遺伝学、発生学研究に適したモデル動物であるキイロショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*) では、左右非対称な器官形成が、細胞レベルのキラリティー (細胞キラリティー) に依存することが明らかになっている。2種類のクラス I ミオシンである Myosin1D (Myo1D) と Myosin1C (Myo1C) が、それぞれ、右手型 (野生型) と左手型 (鏡像) の細胞キラリティを決定する。他のグループの研究で行われた *in vitro* gliding assay において、Myo1D が F-アクチンを左回りにカーブした軌跡で運動させることが示された。この研究から、左にカーブした F-アクチンの運動が、右手型細胞キラリティを決定することが提唱された。一方、同じ条件で、Myo1C は F-actin を直進的に動かし、F-アクチンのキララルな運動を誘発しない。このことから、F-アクチンのカーブ運動だけでは細胞キラリティ形成を説明するには不十分であり、細胞キラリティを決定する他の要素の存在が示唆されていた。博士学位申請者は、Myo1D と Myo1C が膜と相互作用することを考慮し、それらの膜動態の差が、右手型、左手型細胞キラリティを決定する Myo1D と Myo1C の活性の差に関与している可能性を予測した。そこで、Myo1D と Myo1C の細胞膜上の動態の差異を検出、解析する研究が実施された。

一分子イメージングにより、細胞膜上で拡散する Myo1D と Myo1C の一分子動態を解析した。Mean Square Displacement (MSD) 解析から、Myo1C は細胞膜上でブラウン運動に近い拡散運動を示した。一方、Hidden Markov Model (HMM) による解析から、Myo1C では、拡散係数の値が小さい状態 (slow diffusion state) が、Myo1D の場合よりも多いことが明らかにされた。Myo1D と Myo1C のキメラタンパク質や、ドメイン欠損タンパク質の一分子動態を解析すると、HMM 解析で見られた拡散状態の差は、各ミオシンの head ドメインと tail ドメインが細胞膜拡散に与える影響の違いに起因することが示唆された。head ドメインは F-アクチンとの結合、tail ドメインは膜脂質との結合に関与していることから、これらが拡散状態に影響している可能性が推測された。細胞膜からの解離のしやすさを定量した解離速度定数にミオシン間の差はなく、Myo1D と Myo1C は互いの一分子動態に影響を与えていないことも示唆された。

先行研究から、Myo1D と Myo1C は定常状態の ATP アーゼの活性に 10 倍以上の差があると報告されている。F-アクチンとの結合時間にも大きな差があると推定されているが、これは本研究の結果とも一致する。本研究において、Myo1D と Myo1C の膜拡散の違いが、左右非対称性の形成における活性の差を反映している可能性が示唆された。

これらの研究成果は、細胞生物学、発生生物学研究において新しい見解をもたらしたのみならず、今後、この分野の研究の発展に寄与するもので、理学上貢献するところが大きい。よって、本論文は博士 (理学) の学位論文として十分価値あるものと認める。