

論文審査の結果の要旨

氏名：木下 慶美

本論文は5章からなる。第1章はイントロダクションであり、本論文の主題であるダイニンについての知見と本論文の目的および概要が述べられている。第2章では、本研究で行われた実験について、その材料の調整と実験方法について述べられている。特に、本研究の最大の特徴となる光ピンセットを用いた1分子測定については、第2章4節で背景原理から測定の実際まで詳しく説明が行われている。第3章が、本論文の中心的な部分であり、本研究での実験結果が報告されている。まず、第3章1節では、本研究で使用したダイニンについての基本的な特徴付けを行い活性の確認などを行った上で、第3章2節では野生型および変異型ダイニンについて蛍光共鳴エネルギー移動法(FRET)を用いた分光学的方法により、linker部分の構造変化を検出し、そのnucleotide依存性が報告されている。最後に、第3章3節では、光ピンセット法を用いた1分子計測によるダイニンのパワーストロークの測定の結果がまとめられている。これらの実験結果を基に、第4章ではFRETおよびパワーストロークのATP濃度依存性を定量的に解析し、さらに野生型と変異体の結果を対照することで、linker部分の構造変化がパワーストロークに対応するという結晶構造に基づくこれまでの仮説が1分子計測からも支持されることを示している。また、計測されたパワーストロークの大きさが約8 nmとダイニン分子の運動時の歩幅とほぼ一致する値であったことから、ダイニン分子の運動にパワーストロークが大きく寄与することが示唆され、この結果に基づくダイニンの運動機構のモデルが提案されている。最後に第5章で、上記内容がまとめられ、今後の展望を述べて本論文が締めくくられている。

ダイニンは、ミオシンに次いで同定された2番目に古いタンパク質分子モーターであるにもかかわらず、他のタンパク質分子モーターに比べて運動機構の研究は大きく遅れている。これは、ダイニンの分子サイズが大きく、組換えタンパク質の発現・精製が困難であったためで、特に哺乳類ダイニンの組換えタンパク質発現系は世界でも数カ所の研究室で成功しているのみである。本研究では、ダイニンの中では研究が先行している酵母・粘菌ダイニンの構造解析を哺乳類ダイニンに適用し、さらに1分子計測と組み合わせることで哺乳類ダイニンの運動機構を実験的に明らかにした。前半部分は、単に先行する粘菌ダイ

ニンでの実験を哺乳類ダイニンで再現しただけに見えるが、発現精製の困難な哺乳類ダイニンで実験を行い、粘菌ダイニンと同様の構造変化が確認されたことの意義は大きい。それ以上に重要なのは後半の結果である。タンパク質分子1個が作り出す8 nm 程度の変位を再現性よく計測することは一般には極めて難しい。本研究では、所属研究室における光ピンセット技術を巧みに利用することでこの問題を克服し、構造学的に同定されていたリンカー部分の構造変化がパワーストロークに対応し、これがダイニンの運動に大きく寄与していることが実験的に示すことに成功した。

なお、本論文は、神原丈敏、西川香里、茅元司、樋口秀男との共同研究であるが、論文提出者が主体となって実験・解析を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断される。

したがって、博士(理学)の学位を授与できると認める。