

審査の結果の要旨

氏名 宮菌 侑也

本論文は4章からなり、第1章は背景、第2章はDNA二重鎖-キネシンを用いたキネシン分子内の協調メカニズムの解明、第3章はDNAシート-キネシンを用いた複合体内の分子間協調の探索、第4章は本論文の結論について述べられている。

第1章では、研究の背景として、細胞内輸送を担うモーター蛋白質の一種であるキネシン (conventional kinesin, kinesin-1)に関する過去の研究や、実際に細胞内で物質輸送を行なう形態である、キネシン複合体に関する過去の研究について述べている。さらに、本論文で蛋白質と組み合わせる形で導入したDNAナノ構造について、研究の発展を紹介している。

第2章では、キネシン分子内の協調性を調べるために、短い1本鎖DNAにキネシンの酵素部位(頭部)を共有結合し(DNA-kinesin)、2本のkinesinを混ぜあわせる事で、2量体を作製し、運動の解析を行なった結果を述べている。第2章前半では、ネックリンカーのdockingと呼ばれる構造変化による前方へのシフト(レバーアーム)が必要か、あるいは必須ではないのかの検証を行なっている。蛋白表面のさまざまな位置にDNAを標識できることから、蛋白変異体ベースの手法と異なりさまざまな場所で2つの頭部を接続することが可能であった。この特徴を用いて、ATP加水分解能に影響のあるネックリンカーの配列を残したまま、レバーアーム効果のあるコンストラクトとないコンストラクトを作製し、運動性能を比較することにより、レバーアームがキネシンの運動に必須であることを明らかにした。

第2章後半では、キネシンの2つの頭部の間に働く張力の運動への寄与の検証結果について述べている。短い2本鎖DNAは堅い棒とみなす事が可能であるので、柔らかい紐であるペプチド鎖でキネシン頭部をつなげた場合とは違い、分子間の距離を設計することが可能であり、分子間距離の影響を評価する事が可能であった。また、DNAとキネシン頭部をつなげるリンカー部分の堅さを変化させることで、張力の影響も評価する事が可能となった。この手法により、蛋白質変異体ベースの実験で難しかった、張力と距離の影響を区別して評価する事が可能となった。この実験系を用いて、運動機構を評価した所、前足の後頭部に分子内張力がかかることが長距離運動には重要であり、また、張力は、前足の解離を抑制していることを明らかにした。

第3章では、分子間の協調性を明らかにするために、シート状のDNAナノ構造(60x90nm、高さ2nm)に、キネシン分子を共有結合させ、分子数・種類がどのように運動に寄与するのか調べた結果について述べている。DNAシートに結合する分子数が多くなるにつれ、連続歩行距離(Run length)は伸びたが、一方で速度に変化は観察されなかつ

た。また、DNA ナノ構造の分子配置技術を用いると、特定の場所に特定の分子種を配置する事が可能であることから、ATP 加水分解変異体を野生型と一緒に配置した。全部で9分子のキネシンのうちの、1分子をATP 加水分解変異体に置換したところ、速度が1/5に低下した。また、3分子を置換したところ、ほとんど運動が観察されなかった。論文提出者は、これらの結果を、ATP 加水分解変異体が負荷として働き、周りの分子がその負荷に打ち勝って運動することが難しいのではないかと解釈した。本研究で数と配置を制御することが可能なことが示唆されたが、この実験系を発展させることで、より詳細に多分子による運動の解析が可能となることが示唆された。

第4章では本論文の結論について述べている。

本研究はキネシン分子の動きに、DNAを用いて解析するというユニークなアプローチでせまったものであり、生物物理学の発展に寄与する新たな知見をもたらしたものである。

なお、本論文第2章は、林真人氏, Peter Karagiannis 氏, 原田慶恵氏、多田隈尚史氏との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行なったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

以上のことより、博士（科学）の学位を授与できると認める。

以上 1596 字