

論文審査の結果の要旨

論文提出者氏名 佐々木直哉

本論文は 3 章からなり、それぞれ遺伝子工学的手法を用いて変異ミオシンを作成し、その生化学的性質をしらべることで、ミオシンのモーター機能の発現機構をあきらかにしたものである。

まず第 1 章では、ミオシン頭部領域の ATPase 活性部位にあるスイッチ II ループに注目して、そのアラニンスキャニングによる機能解析をおこなった。この結果、このループの Gly457 は ATPase 活性部位に結合したヌクレオチドの γ リン酸基の状態を感じる“ γ リン酸センサー”として機能し、分子全体の構造変化の起点であると結論できた。G457A 変異ミオシンは ATP と正常に結合したが、これを加水分解できなかった。また、G457A では ATP 結合直後の異性化反応が起こっていないことが分かった。このことから、ATP 加水分解に伴う Gly457 でのスイッチ II ループの構造変化が、レバーアームの動きや ATP 加水分解に必須であると結論できた。また、Glu459 をアラニンへと置換した E459A 変異ミオシンは ATP を結合して異性化を起こすが、ATP を加水分解できなかった。つまり、E459A は ATP をほとんど不可逆的に結合したまま ATP 加水分解直前の状態に安定に保持されていた。

第 2 章では、アクチンとの強い結合にかかわる部位を同定するため、ミオシン頭部の先端部に位置しているミオパシーループとよばれる領域に注目した。このミオパシーループを欠損させた変異ミオシンはアクチン上を滑走できなかった。さらにこの変異ミオシンでは ATP 非存在下においてアクチンに対する結合能が著しく損なわれていた。このためこの変異ミオシンのモーター機能の喪失は、アクチンとの疎水結合に基づく強い相互作用が失われたためと結論できた。つまり、このミオパシーループは強い相互作用部位のひとつであり、かつ「強い相互作用状態」をとることがミオシンのモーター機能に必須であると言える。

第 3 章では、ATP 加水分解サイクルにともなう「強い結合状態」から「弱い結合状態」への転移に着目し、ストラットループとよばれる構造に関する変異ミオシンを作成した。ストラットループのいろいろな位置にさまざまなアミノ酸残基を 1 残基だけ挿入した変異ミオシン、及び 1 残基だけ欠失させた変異ミオシンを作成した。このような変異ミオシンはいずれもモーター機能を完全に失っていた。これらの変異ミオシンは、ATPase 活性に関してはほぼ野生型並の機能を維持しながら、アクチンと強く結合できなかった。このような表現型はミオパシーループの欠損変異ミオシンとほぼ同じだった。すなわち、わずかにストラットループの長さを変えただけで、アクチンとミオシンの強い結合が失われることが明らかになった。つまり、ストラットループ両脇にあるふたつの疎水性アクチン結合部位の位置関係がわずかに変わるだけで、「強い結合状態」→「弱い結合状態」という状態変化が起こることから ATPase 反応の途中でもこのようなわずかな構造変化によって「強い結合状態」⇔「弱い結合状態」という転移が実現されていると予想できた。

以上のように、多数の変異ミオシンを作成し、その生化学的な性質を精密に調べることで、ミオシンによるモーター機能発現の分子機構の一端があきらかになった。

なお、本論文の 1 章、2 章、3 章とも数人との共同研究であるが、どの部分も論文提出者が主体となっておこなわれた研究であると判断できる。よって、本論文は博士（学術）の学位請求論文として合格と認められる。