

論文審査の結果の要旨

氏名 安永 卓生

アクチン・ミオシン系分子モーターは、アデノシン3リン酸 (ATP) の加水分解により放出される化学エネルギーを利用して、滑り運動という力学運動を引き起こすことができる。この化学エネルギー→力学エネルギー変換は筋収縮などをつかさどる分子モーター蛋白質に普遍的な現象であるが、その分子機構は未だ明らかではない。本論文では、このエネルギー変換の分子機構解明を目的として、おもにクライオ電子顕微鏡法と蛍光エネルギー移動法を用いて、アクチン・ミオシン系の構造学的研究を行い、それらの成果が報告されている。特に、蛍光エネルギー移動に基づく確率的距離幾何学法は申請者が独自に開発した新しい手法であり、X線結晶構造解析により明らかにされている蛋白質立体構造の原子モデルと溶液中の蛋白質立体構造との関係を明らかにすることができた。

本論文は4章よりなり、第1章では、クライオ電子顕微鏡法、蛋白質2次構造予測法、蛍光エネルギー移動に基づく確率的距離幾何学法の3つの手法を用いて、アクチンフィラメントの構造と揺らぎとの相関を調べた結果が述べられている。アクチンがフィラメントを形成した直後のATP型では、電子顕微鏡像の持続長から見積もられた構造の硬直度が最も大きく、それが、ADPPi型、ADP型となるに従い次第に柔らかくなることが示されている。また、アクチンのカルボキシル末端 (C末端) は構造変化を起こしやすい領域であり、特に、アクチンC末端近傍のシステイン (Cys374) を蛍光色素で標識すると構造が変化し、Cys374の立体構造上の位置がX線結晶構造解析で観測された位置から大きくずれることが示されている。この結果は、これまで蛍光エネルギー移動法などを用いて報告された、Cys374の立体構造上の位置に関する実験データを矛盾なく説明するものである。

第2章では、蛍光エネルギー移動法に基づく確率的距離幾何学法とクライオ電子顕微鏡法を用いて、溶液中での化学状態の変化に共役した、ミオシンの立体構造変化を観測した。確率的距離幾何学法による解析結果とX線結晶解析法により提唱されたミオシン立体構造の原子モデルとを比較することにより、ミオシン立体構造の各原子モデル (第1の構造および第2の構造と呼ばれる2つの異なった立体構造モデル) を溶液中のミオシンの異なった化学状態に帰属することができた。その結果、無機リン酸の解離にともなってミオシン

の構造が変化し、その変化の向きが滑り運動の向きと一致していることが初めて明らかとされた。また、最近X線結晶解析により明らかにされたミオシンの第3の立体構造が、ATP加水分解定常反応中における過渡的な状態である可能性も示されている。さらに、クライオ電子顕微鏡法を用いて、ミオシン単一分子を可視化し、ミオシン分子の立体構造多型性を観察した結果も報告されている。

第3章では、クライオ電子顕微鏡法を用いてアクチン・ミオシン硬直複合体の三次元構造を解析した結果が報告されている。ミオシンはアクチンと結合することにより、そのアクチンクレフトと呼ばれるクレフト構造領域が構造転移し、その結果、結合していた無機リン酸が解離しやすくなる可能性が示されている。

第4章では、上記の結果を総合して、アクチン・ミオシン系エネルギー変換の分子機構を蛋白質構造学の観点から考察し、滑り運動を説明する一つのモデルとして「天秤棒モデル」が提唱されている。

本論文では、無機リン酸の解離に伴うモーター蛋白質ミオシンの大きな構造転移の詳細が初めて明らかにされた。ミオシンの溶液中の立体構造が結晶構造原子モデルに帰属できることが初めて示された。また、クライオ電子顕微鏡法を用いた蛋白質一分子の可視化や構造揺らぎ情報の抽出についても報告されている。以上の成果は、アクチン・ミオシン系のエネルギー変換の分子機構を解明する上で多大の寄与をなすものである。なお、この論文は、鈴木良和氏、大倉玲子氏、須藤和夫氏、若林健之氏との共同研究であるが、論文提出者が主体となって研究を行ったものであり、審査員一同は同提出者が博士（理学）の学位を授与するのに十分であると判断した。