

(続紙 1)

京都大学	博士 (理学)	氏名	久保 進太郎
論文題目	細胞質ダイニンの運動メカニズム解明を目指した分子シミュレーション研究		
(論文内容の要旨)			
<p>細胞質ダイニンは細胞内小器官の輸送や配置、細胞分裂において重要な役割を担う分子モーターである。本博士論文は、細胞性粘菌<i>Dictyostelium Discoideum</i>の細胞質ダイニンの運動メカニズム解明を目指し、3段階の分子シミュレーション研究を行った。</p> <p>細胞質ダイニンはATPの加水分解から得られる自由エネルギーを用いて微小管上を二足歩行運動する事で物質輸送や配置を行う分子モーターである。二足のそれぞれの足はモータードメインと呼ばれ、ATP加水分解反応を担うAAA+ドメインと微小管結合ドメインのMTBDからなる。歩行運動において特に重要な加水分解反応を行うAAA1(AAA+ドメインの一部)からMTBDまでは約25 nmと長距離離れているが、その間の伝達機構はこれまで明らかにされていなかった。そこで、第1章では単体のモータードメイン内部での構造変化機構について研究した。具体的に、実験では観察困難な詳細なヌクレオチド状態変化に伴う構造変化の伝播経路を調べる為に、ダイニンをよく知られている8ドメインに分割し、それぞれがpre/postの2状態を行き来出来る様にMultiple-basin modelを用いて設定した。CafeMolによる粗視化分子動力学シミュレーションをこのダイニンについて行う事で、加水分解反応時、及び、その後のATP結合時の構造変化の際に8ドメインがどのような順番で構造変化するかを明らかにした。</p> <p>次に、未解明な点が多い「ダイニンがなぜ微小管上を一方向に運動する事が可能なのか」に着目し研究を行った。久保氏は一方向運動を可能にする鍵は、MTBDがダイニンの進行方向には解離しやすいが、逆方向には解離しにくいという異方性にあると考えた。そこで、第2章ではMTBDのどの部位が解離の異方性を生み出し、そして解離の異方性が本当に一方向運動実現のために重要な役割を担うのかについて解析した。微小管に強結合状態のMTBDを配置し、MTBDに微小管のプラス端方向、マイナス端方向それぞれに外力を加える粗視化分子動力学シミュレーションを行った。結果として、解離の異方性は確かに確認され、さらに微小管との接触頻度が特に高い部位を特定した。理論的に明らかになったプラス端方向への移動時に微小管との接触頻度が高いアミノ酸に対して、共同研究者に点変異を導入したダイニンの作成とそれを用いた一分子計測実験を依頼し、確かに実験的にも解離の異方性の消失が確認され、同時に一方向運動性能も消失した。これらの結果から、ダイニンの一方向運動の鍵となる部位を特定し、さらにその働きを解明することに成功した。</p> <p>これらの知見を総合して、最後に、各足のATP加水分解サイクルと二足歩行の協調関係について研究した。ダイニンはhand-over-handだけでなく、尺取り虫のように常に片足が前方に、もう片足はそれを追従するように動くinchworm-likeや、片方の足が連続してステップするような非交互の運動も確認されている。また、片足</p>			

のヌクレオチド状態変化を阻害したり、松葉杖のような全く別の構造体に置換しても一方向運動が実現される。これらの結果は二足間の相互作用が弱いことを示唆している。しかし効率的な一方向運動の実現のためにはある程度の相関関係は必要になると考えられる。そのような状況でも歩行運動が可能となるような二足間の相互作用についてはわかっていなかった。そこで、第3章では二足歩行運動時の二足の位置関係と歩行様式の関連性を調べるためにマルコフ状態モデルを作成し、モンテカルロ計算によって詳細な運動の様子を解析した。計算の結果、作成したモデルは実際のダイニンの特徴的な ATP 濃度依存の運動性能の変化や外力応答を再現した。その上で、最頻出経路は実験でも確認されているように *inchworm* であった。しかし、その詳細なヌクレオチド状態変化はこれまで考えられていたような二足それぞれが ATPase cycle を回す事で一歩ずつ前進するのではなく、片足は ATPase cycle を回すことで前進するが、二歩目を行う後ろ足は前足との間に発生する内力によって ATP を使わずに拡散を用いて運動する事が明らかになった。また、同一のモデルで、*hand-over-hand* や非交互歩行も一定の割合で起こることを示した。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

久保進太郎氏の博士論文は、細胞内小器官の輸送や配置、細胞分裂において重要な役割を担うモータータンパク質であるダイニンに着目し、細胞性粘菌・細胞質ダイニンの運動メカニズム解明を目指し、3段階の分子シミュレーション研究を行ったものである。

ダイニンは、ATP加水分解の自由エネルギーを用いて微小管上を1方向的に動く巨大なタンパク質である。そのモータードメイン内では、ATP加水分解を担う部位から微小管と相互作用する部位まで約25nmもの距離を隔てている。ATP加水分解の作用が遠く離れた微小管との相互作用をいかにして制御するのか、は未解明の問題の一つであった。本論文1章において久保氏は、構造変化を誘導する分子シミュレーションによって、この構造変化の伝達経路を解析し、運動に関係する経路の特徴を見出すことに成功した。

次に本論文第2章では、ダイニン運動の異方性を研究した。先行研究で、ダイニンに引力をかけたとき微小管からの解離速度が、引力をかける向きに依存するという現象が知られている。久保氏は、これが運動の異方性の原因ではないかと考え、分子シミュレーションによって解離の異方性を再現し、その際に重要な役割をするアミノ酸を特定した。さらに実験研究者との共同研究を通じて、このアミノ酸を変異すると異方性が消失し、ダイニンの一方向運動性も消えることを確認した。ダイニン運動機構の根幹にかかわる可能性がある知見といえる。

最後に第3章では、以上の知見と他の実験からの知見を総合し、2量体ダイニン歩行運動の数理モデルを構築し、ダイニン2足歩行の多様な運動モードを再現し、そのなかでATP加水分解と運動との共役機構についての新しいモデルを提案した。この歩行モデルは、今後検証される必要があるものの、ダイニン機能研究において重要な寄与であると思われる。

以上のように本論文は、これまで未解明であった細胞質ダイニンの構造と運動の相関に関して分子シミュレーションから解析し、種々の新たな知見を得たものである。よって、本論文は博士(理学)の学位論文として価値あるものと認める。また、令和2年1月14日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。なお、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

要旨公表可能日：学位授与日から即時