

京都大学	博士（工学）	氏名	松下 慎二
論文題目	分子構造ダイナミクス解析によるアクチンフィラメントの力学挙動の評価		
（論文内容の要旨） 本論文は，細胞骨格要素であるアクチンフィラメント分子の構造ダイナミクスを分子スケールにおいて解明することを目指し，分子動力学シミュレーションによりアクチンフィラメントの力学挙動を評価した結果をまとめたものである．本論文は，5章からなっている． 第1章は緒論であり，研究背景，および，本論文の目的を述べている．まず，細胞内におけるアクチンフィラメントのダイナミクスに関して，アクチンフィラメント分子の有する構造・機能の観点から説明している．次に，力学的因子，生化学的因子，および，それらの連成因子がそのダイナミクスに及ぼす影響について，これまでに得られた知見を述べている．その中で，アクチンフィラメントの有する分子機構の解明に向けて，分子構造のダイナミクス解析を通じ，アクチンフィラメントの力学特性，および，力学挙動を定量的に評価することの重要性を指摘している．さらに，アクチンフィラメントの力学挙動を解析する上で，分子動力学法が有用であることを述べた上で，本論文の目的を述べている． 第2章では，細胞内状態におけるアクチンフィラメントの力学挙動を解明する第一歩として，アクチンフィラメントの引張剛性，および，ねじり剛性を，分子動力学法を用いて定量的に評価している．まず，分子動力学法を半周期構造のアクチンフィラメントに適用し，無負荷状態のアクチンフィラメントの分子構造の長さ方向，および，ねじれ方向の熱ゆらぎを解析している．次に，エネルギー等分配則から同構造の引張剛性，および，ねじり剛性を評価し，評価する時間スケールに対する剛性値の収束性を検討している．その結果，熱ゆらぎを十分に長い時間スケールにおいて観測した場合，引張剛性，および，ねじり剛性は，実験により評価された巨視的な力学特性に十分に近い値となることを示している．さらに，分子動力学法に基づいて定量的にアクチンフィラメントの力学挙動を評価することの重要性を示している． 第3章では，第2章において評価したアクチンフィラメントの引張挙動，および，ねじり挙動を関連付ける連成挙動を解析している．連成挙動をもたらすフィラメントの二重らせん構造に着目し，引張－ねじり連成剛性とフィラメント構造ゆらぎとの関係式を統計力学に基づいて導出している．また，平衡状態におけるアクチンフィラメントの構造ゆらぎを測定した結果，引張－ねじり連成挙動が存在することを示している．さらに，得られた構造ゆらぎを，導出した関係式に適用することにより，引張－ねじり連成剛性を定量的に評価している．最後に，タンパク質に外力を与えず，構造ゆらぎを解析する			

本剛性評価手法は、外力により容易に構造変化するタンパク質の剛性評価に適した手法であることを示している。

第4章では、操作型分子動力学法をアクチンフィラメントに適用し、張力作用下におけるアクチンフィラメントの力学挙動を分子スケールにおいて定量的に解析し、第2、3章において得られた無負荷状態におけるフィラメントの力学挙動と比較検討している。まず、アクチンフィラメントに一定の張力を負荷した結果、引張ひずみと共に、引張-ねじり連成挙動を通じてフィラメントのねじれ角が減少することを示している。次に、第2章において確立した剛性評価法を用いて、引張剛性、および、ねじり剛性を評価している。その結果、張力作用下におけるアクチンフィラメントのねじり剛性が、無負荷状態におけるフィラメントの同剛性に比して、増大することを示している。このねじり剛性の増大は、アクチンフィラメントの二重らせん構造に起因するものであり、二重らせん構造のねじれ角の減少が、フィラメントのねじれ方向の運動を調整したと考察している。最後に、張力作用下におけるアクチンフィラメントの力学-生化学連成機構に関して、アクチン脱重合タンパク質であるコフィリンを例に、その結合親和性について考察している。その結果、コフィリンは、張力作用下におけるフィラメントに比して、無負荷状態におけるフィラメントに確率的に結合しやすいこと、すなわち、フィラメントに作用する張力が、コフィリンの結合を阻害することを示している。

第5章は結論であり、本論文で得られた成果についてまとめている。アクチンフィラメントの力学挙動を把握するための基礎的な知見を得た本研究は、分子スケールにおける力学-生化学連成機構と細胞スケールにおけるダイナミクスとの関係について、分子スケールから解明する上での重要な指針の一つとなり、ひいては、細胞骨格スケールにおけるアクチンフィラメントのバイオメカニクスを理解し、それを医療、および、バイオナノテクノロジー分野等の様々な学問分野へと応用するための基礎的知見を与えるものであると述べている。

(論文審査の結果の要旨)

本論文は、細胞骨格要素であるアクチンフィラメントのダイナミクスを分子スケールにおいて解明することを目指し、数値シミュレーションを用いたアクチンフィラメント構造の分子構造ダイナミクス解析を通じて、同構造の力学挙動を評価した結果をまとめたものである。得られた主な成果は以下の通りである。

1. 分子動力学シミュレーションにより、アクチンフィラメントの力学特性を特徴づける分子構造の熱ゆらぎを観測し、統計力学的手法に基づいて、同フィラメントの引張剛性、および、ねじり剛性を定量的に評価した。十分に長い時間スケールにおいて熱ゆらぎを観測することにより、分子構造ダイナミクスから巨視的な力学特性を評価する指針を示した。
2. 1) において評価したアクチンフィラメントの引張挙動、および、ねじり挙動を関連付ける引張－ねじり連成挙動に着目し、分子動力学法に基づいたアクチンフィラメントの引張－ねじり連成剛性の評価手法を提案した。同剛性の評価、および、引張－ねじり連成挙動の検討を通じて、無負荷状態のフィラメント状タンパク質の連成剛性を評価する上で、本評価法が有用であることを示した。
3. アクチン細胞骨格が力学的機能を担う上で重要な調整因子となる張力に着目し、操作型分子動力学法に基づいて、張力作用下におけるアクチンフィラメントの分子構造ダイナミクスを定量的に解析した。これらの結果に基づいて、張力とアクチン結合タンパク質との力学－生化学連成機構の作用機序に関して基礎的な知見を得ることができた。

以上、本論文は、分子スケールにおける一本のアクチンフィラメントの力学挙動の理解に向け、アクチンフィラメントの基礎的な力学特性、および、張力作用下におけるアクチンフィラメントの分子構造ダイナミクスに関して新たな知見を提供するものである。よって、本論文は博士（工学）の学位論文として価値あるものと認める。また、平成24年2月20日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行って、申請者が博士後期課程学位取得基準と満たしていることを確認し、合格と認めた。