提出日:2025年5月1日

## 2024 年度 Bio-SPM 技術共同研究事業

## 研究成果の概要

| 実験課題名           |           | ミオシン MD の新規アクチン結合領域によるアクチン繊維の東化機構の解明 |              |
|-----------------|-----------|--------------------------------------|--------------|
| 申請者(実験責任者)      | 氏名        | 伊藤 光二                                |              |
|                 | 所属機関名•部局名 | 千葉大学 大学院理学研究院 生物学研究部門                |              |
|                 | 職名        | 教授                                   |              |
|                 |           |                                      | 原子分解能/3D-AFM |
| 利用した Bio-SPM 技術 |           | 0                                    | 高速 AFM       |
| (該当の技術の右欄に〇)    |           |                                      | SICM         |
|                 |           |                                      | 細胞測定 AFM     |
| NanoLSI 受入担当教員名 |           | 古寺 哲幸 教授                             |              |

本研究では、ミオシン MD の新規アクチン結合領域によるアクチン繊維の東化機構の解明を目的とした。従来、ミオシンのアクチン結合領域(ABS)はモータードメイン(MD)の一領域のみに存在すると考えられてきたが、先行研究により植物ミオシンXIである MYA2 MD の N 末端領域が 2 つ目の ABS(2<sup>nd</sup>ABS)として機能し、アクチン繊維を東化することが示唆されていた。そこで、本研究では、高速 AFM を用いて MYA2 MD によるアクチン繊維の東化現象を再度観察し、その実証を試みるとともに、MYA2 MD の N 末端領域に 2<sup>nd</sup>ABS が存在するかどうかの直接的な立証を目指した。

MYA2 MD および東化活性を持たないシャジクモミオシンである CcM の N 末端領域を MYA2 に置換したキメラミオシン(CcM-MYA2 Nt)を用いて、MYA2 MD の N 末端領域に  $2^{nd}ABS$  が存在するかどうかを AFM による直接観察によって明らかにすることを試みた。

研究の結果、高速 AFM 観察により、MYA2 MD が 2 本のアクチン繊維の間に挟まり、アクチン繊維を束化する様子が確認された。この際、極性が揃ったアクチン繊維間でより束化が起こりやすい傾向が示唆された。一方、CcM の N 末端領域を MYA2 に置換した変異体(CcM-MYA2 Nt)では、MYA2 MD と同様にアクチン繊維を束化する様子が観察された。この結果は、MYA2 MD の N 末端領域に 2<sup>nd</sup>ABS が存在し、アクチン繊維の束化に寄与していることを強く示唆している。この変異体においても、極性が揃ったアクチン繊維間で束化が起こりやすい傾向が確認された。

これらの成果から、MYA2 MD および CcM-MYA2 Nt はアクチンの極性を揃えて東化を引き起こすことが明らかになった。現在、観察されたデータのうち、まだ極性判断が正確に行えていないデータが残っており、その解析が進められている。高速 AFM 観察と並行して行われている *in vitro* 実験の結果と合わせて、本年度中の論文投稿を目指している。本研究は、高速 AFM という先端的な技術を活用し、ミオシンによるアクチン繊維の東化機構、特に新規なアクチン結合領域(2<sup>nd</sup>ABS)の役割を明らかにする上で重要な進展を示したと言える。

<sup>※</sup>必ず A4 用紙 1 枚におさめて下さい。 ※提出期限:2025 年 5 月 9 日(金) ※提出の際は PDF 変換して下さい。

<sup>※</sup>提出先:金沢大学 WPI-NanoLSI Bio-SPM 技術共同研究事業担当係 国岡 E-mail: nanolsi openf01@ml.kanazawa-u.ac.jp