

博士論文審査報告書

氏 名 指宿 良太 (いぶすき りょうた)
学位の種類 博士 (理学)
学位記番号 博理第 1 2 2 号
学位授与報告番号 甲第 3 7 1 号
学位授与年月日 令和 2 年 3 月 24 日
学位授与の要件 学位規則第 4 条 1 項該当
論文題目 編集可能な DNA 上を一方向に動く改変型ダイニンによる
分子輸送システムの構築
論文審査委員 (主査) 教授 峰雪芳宣
(副査) 教授 水島恒裕
(副査) 教授 大岩和弘
(副査) 教授 八木俊樹

(県立広島大学生命環境学部生命科学科)

1. 論文内容の要旨

本論文では、細胞機能において重要な役割をはたしている分子モーターの機能原理とその利活用を、構成論的手法を用いて追求したものである。生体システムは細胞内における複雑な輸送によって担われている。この輸送は、わずか 2 種類の細胞骨格（アクチンフィラメントや微小管）と、その上を移動するミオシン、ダイニンやキネシンなどの分子モーターにより行われている。このため、分子モーターシステムを制御可能な形で細胞から取り出して使うことができれば、微小物のソーティングや分子計算機を人工的に構成して、センサーやバイオコンピューターシステムに組み込むような応用に繋がると期待できる。しかし、天然の分子モーターは、その運動メカニズムや設計原理が明らかになっていないことから、人為的最適化が容易に行えない。また、微小管やアクチンなどの細胞骨格フィラメントは不安定であり、人為的制御は容易ではない。申請者はこれらの課題解決のために、天然に存在するタンパク質要素を組み合わせる新奇分子モーターを創り、これを細胞骨格系フィラメントの代替とした DNA ナノチューブ上を運動させる新たな分子輸送システムを構築した。得られた新奇分子モーターは、DNA ナノチューブ上の特定の塩基配列を認識して結合し、14~30 nm/s の速度で DNA ナノチューブに沿って一方向に運動した。

さらに、この分子モーターを用いて長距離分子輸送システムを構築するために、複数の分子モーターからなる集合体を構築する技術を開発した。その開発のために、野生型ダイニンの DNA 構造体への配置法や、DNA 構造体に結合しなかった過剰量のダイニンの除去技術を開発した。この技術を基に、DNA origami を輸送担体とした分子モーターの配置・精製を行い、ガラス基板に固定した DNA ナノチューブ上での DNA origami-モーター複合体の輸送を実現した。また、DNA 結合タンパク質の特異的な認識機構を活用して、相互干渉しない 2 種類の分子モーターを開発した。この分子モーターを別々の DNA origami 上に配置することで、特定の DNA ナノチューブを認識して運動する独立した輸送システムを構築することに成功した。この技術は、特定の DNA ナノチューブ上で自律的かつ選択的に、分子を選別する技術につながるものであり、分子モーターを用いた分子輸送システムの実応用への道を拓くものである。

2. 論文審査結果

生物の持つ生物分子モーターは、熱擾乱に晒されながらも細胞骨格フィラメント上を一方方向に安定に運動する分子マシンである。しかし、数十年にわたる精力的な研究にもかかわらず、方向性運動の本質的理解には至っていない。申請者の研究課題は、モーターやフィラメントを合理的に再設計し、運動原理を明らかにするための基盤技術の開発である。具体的には、生物分子モーターであるダイニンに DNA 結合タンパク質を融合した新しいハイブリッドモーターを創り出すことである。このハイブリッドモーターは、DNA 高次構造体に周期的に組み込んだ認識配列と相互作用して、ATP 依存的に一方向の運動を作り出すことができる。単一塩基対での編集が可能な DNA 構造体を用いたことで、方向性運動のメカニズムの解明に向けた網羅的かつ体系的研究を可能としたことは、学術的価値が極めて高い。また、優れたナノ材料である DNA 分子を使ったことで、ナノテクノロジーへの分子モーターの利活用の道を拓いた新規性も高く評価できる。関連研究領域の研究進展への貢献はきわめて大きいものと判断する。

よって、本論文は博士（理学）の学位論文として価値のあるものと認める。

また、令和 2 年 1 月 23 日、論文内容およびこれに関連する事項について試問を行った結果、合格と判定した。

博士論文審査報告書

論文題目：編集可能な DNA 上を一方向に動く改変型ダイニンによる
分子輸送システムの構築

申請者： 指宿 良太

1. 論文内容の要旨

本論文では、細胞機能において重要な役割をはたしている分子モーターの機能原理とその利活用を、構成論的手法を用いて追求したものである。生体システムは細胞内における複雑な輸送によって担われている。この輸送は、わずか 2 種類の細胞骨格（アクチンフィラメントや微小管）と、その上を移動するミオシン、ダイニンやキネシンなどの分子モーターにより行われている。このため、分子モーターシステムを制御可能な形で細胞から取り出して使うことができれば、微小物のソーティングや分子計算機を人工的に構成して、センサーやバイオコンピューターシステムに組み込むような応用に繋がると期待できる。しかし、天然の分子モーターは、その運動メカニズムや設計原理が明らかになっていないことから、人為的最適化が容易に行えない。また、微小管やアクチンなどの細胞骨格フィラメントは不安定であり、人為的制御は容易ではない。申請者はこれらの課題解決のために、天然に存在するタンパク質要素を組み合わせる新奇分子モーターを創り、これを細胞骨格系フィラメントの代替とした DNA ナノチューブ上を運動させる新たな分子輸送システムを構築した。得られた新奇分子モーターは、DNA ナノチューブ上の特定の塩基配列を認識して結合し、14~30 nm/s の速度で DNA ナノチューブに沿って一方向に運動した。さらに、この分子モーターを用いて長距離分子輸送システムを構築するために、複数の分子モーターからなる集合体を構築する技術を開発した。その開発のために、野生型ダイニンの DNA 構造体への配置法や、DNA 構造体に結合しなかった過剰量のダイニンの除去技術を開発した。この技術を基に、DNA origami を輸送担体とした分子モーターの配置・精製を行い、ガラス基板に固定した DNA ナノチューブ上での DNA origami-モーター複合体の輸送を実現した。また、DNA 結合タンパク質の特異的な認識機構を活用して、相互干渉しない 2 種類の分子モーターを開発した。この分子モーターを別々の DNA origami 上に配置することで、特定の DNA ナノチューブを認識して運動する独立した輸送システムを構築することに成功した。この技術は、特定の DNA ナノチューブ上で自律的かつ選択的

に、分子を選別する技術につながるものであり、分子モーターを用いた分子輸送システムの実応用への道を拓くものである。

2. 論文審査結果

生物の持つ生物分子モーターは、熱擾乱に晒されながらも細胞骨格フィラメント上を一方向に安定に運動する分子マシンである。しかし、数十年にわたる精力的な研究にもかかわらず、方向性運動の本質的理解には至っていない。申請者の研究課題は、モーターやフィラメントを合理的に再設計し、運動原理を明らかにするための基盤技術の開発である。具体的には、生物分子モーターであるダイニンに DNA 結合タンパク質を融合した新しいハイブリッドモーターを創り出すことである。このハイブリッドモーターは、DNA 高次構造体に周期的に組み込んだ認識配列と相互作用して、ATP 依存的に一方向の運動を作り出すことができる。単一塩基対での編集が可能な DNA 構造体を用いたことで、方向性運動のメカニズムの解明に向けた網羅的かつ体系的な研究を可能としたことは、学術的価値が極めて高い。また、優れたナノ材料である DNA 分子を使ったことで、ナノテクノロジーへの分子モーターの利活用の道を拓いた新規性も高く評価できる。関連研究領域の研究進展への貢献はきわめて大きいものと判断する。

よって、本論文は博士（理学）の学位論文として価値のあるものと認める。

また、令和2年1月23日、論文内容およびこれに関連する事項について試問を行った結果、合格と判定した。

主査：峰雪芳宣

副査：水島恒裕

：大岩和弘

：八木俊樹

(県立広島大学生命環境学部生命科学科、教授)

