

論文審査の結果の要旨

氏名 若林 憲一

本論文は、真核生物の運動器官である鞭毛の周期的構造の構築に関する実験結果を記述したものである。鞭毛は9 + 2と呼ばれる多くの生物に共通した軸糸構造を持っており、周辺微小管上に結合した軸糸ダイニンが隣り合う周辺微小管に対して滑り力を発生することによって、規則的な波打ち運動を行なう。軸糸ダイニンは外腕・内腕の2つに分類でき、それぞれ決まった場所に結合している。外腕はモーター活性を持つ3つの重鎖を含んでおり、24nm 周期で1列に並んでいる。一方内腕は8つの重鎖を含む7種類が、1セット 96nm で複雑に並んでいる。このように、異なる活性を持つダイニンが特異的サイトに周期的に結合していることが、鞭毛が波打ち運動を行なう上で重要であると考えられる。しかし、ダイニンがどのようにして微小管に対して特異的・周期的結合を行なうのか、その仕組みについてはまだ明らかにされていない。近年、緑藻クラミドモナスにおいて、外腕ダイニンの特異的結合を媒介する構造の候補として、外腕ダイニンの根本に存在する蛋白質複合体(ODA・DC)が発見された。本論文は ODA・DC の構造と機能の解析を通して、外腕ダイニンの特異的・周期的結合の仕組みの解明に取り組んだものである。

本論文は2章からなる。第1章では、ODA・DC を構成する3つのサブユニットのうち、主要な2つのサブユニットに特異的に反応するポリクローナル抗体を新たに作成して、ODA・DC のクラミドモナスの細胞から鞭毛への輸送の仕組みや、鞭毛軸糸における結合様式について解析した。その結果、ODA・DC が細胞質で外腕ダイニンと独立に複合体を形成し、細胞体から鞭毛へ別々に運ばれることが分かった。また、軸糸微小管の免疫電顕観察から、ODA・DC は外腕欠失ミュータントの鞭毛においても周期 24nm で軸糸微小管に結合していることが見出された。このことから、外腕の 24nm 周期は、根本にある ODA・DC の周期に由来したものであることが示唆された。従

来、24nm の周期性はダイニン同士の結合によって生み出されていたと想像されていたが、外腕ダイニンの根本にある構造が外腕の周期性に関与していることが今回初めて示唆された。

第2章では、ODA・DC の主要サブユニット2つを昆虫培養細胞で共発現させ、その精製標品の構造・機能解析を行った。発現した標品は軸糸から精製した ODA・DC と構造上大きな差はなく、軸糸微小管の特異的サイト、および細胞質性微小管に結合する能力を持っていた。電顕観察から、精製標品を結合させた細胞質性微小管は、24nm の周期性をもっていることが明らかになった。また、並行して行った精製標品およびクラミドモナス軸糸に対する化学架橋実験により、2つのサブユニットの結合比が2:1 もしくは1:2 であること、これらが重合能を持つ可能性があること、また2つともにチューブリン結合蛋白質であることが判明した。これらのことから、ODA・DC は微小管上において、他の蛋白質に依存せずそれ自体で、おそらくは重合によって24nm 周期を作り出すモレキュラー・ルーラーとしての機能を持つことが示唆された。同時に、ODA・DC を軸糸微小管上の特異的サイトにつなぎとめる未知のアンカー構造の存在も示唆された。ODA・DC はクラミドモナス細胞からの大量精製が困難なため、これまでその機能の多くが不明であったが、今回初めて組み換え蛋白質標品の大量発現・精製に成功したため、生化学的な手法を用いて解析を行なうことができた。最後に第1章・第2章の結果をまとめて、鞭毛形成時における ODA・DC と外腕の鞭毛への輸送モデルおよび軸糸微小管への結合モデルを提案した。

以上、第1章、第2章で述べられた結果は、鞭毛形成において大きな謎となっていた周期性の構築を理解する上で重要な情報を提供するものであり、細胞生物学の分野において高く評価される。また、本研究は論文提出者を含めて4人の共同研究であるが、論文提出者が主体となって抗体作成から顕微鏡観察、データ解析まで一貫して行なったものであり、論文提出者の寄与が十分であると判断する。従って、博士（理学）の学位を授与できると認める。