

論文審査の結果の要旨

氏名 今井 洋

真核生物の鞭毛運動は、外腕・内腕ダイニンによって起されるダブルレット微小管間の滑り運動を原動力としている。外腕は滑り運動に必要な力発生を行うだけでなく、滑り速度の調節に重要であるといわれている。しかし、その機構はまだ明らかにされていない。本論文は、新しい実験手法の導入により、外腕ダイニンの滑り速度制御機構の一端を初めて明らかにしたものである。

滑り運動の解析を行うには、ダブルレット間を繋ぎとめている構造を壊す必要がある。ウニ精子鞭毛でトリプシン処理により滑りを誘導すると、外腕と内腕がともに存在する軸系の滑り速度は、内腕のみの軸系の滑り速度の約2倍である。したがって、外腕が滑り速度の制御に関与していると思われる。トリプシン処理により外腕ダイニンは切断を受け、その断片のATP加水分解活性は切断前より高くなる。しかし、この断片はダブルレット間に架橋構造を形成できないため、断片のみで滑りを起こすことは難しい。以上のことから、外腕の存在する軸系がトリプシン処理により高い滑り速度を示すという実験事実を説明するには、滑りを起こすことのできるダイニンとダイニン断片との間のなんらかの制御を考える必要がある。

本研究では、まず、ダイニンを切断しない手法で滑りを誘導した場合にも、外腕と内腕の存在する軸系の滑り速度が内腕のみの軸系の滑り速度より速いのかについて検討した。エラスターゼ処理したウニ精子鞭毛軸系は、構造の一部が消化され、滑りを起こすことができるにも関わらず、滑りの制御機構をある程度保持している。高濃度ATPでは、この軸系は2本のダブルレットの束に別れるような滑りを示す。この滑り運動の解析によりダブルレット間の滑り速度を精度よく解析した。その結果、トリプシン処理で滑りを誘導すると、外腕と内腕の揃っている軸系が最も速い速度を示し（平均約15 $\mu\text{m}/\text{秒}$ ）、外腕の大部分を取り除くと速度が少し減少する（約11 $\mu\text{m}/\text{秒}$ ）。これに対し、内腕のみの軸系では約8 $\mu\text{m}/\text{秒}$ となった。一方、エラスターゼで滑りを誘導すると、外腕の存在によらずすべての軸系で約8 $\mu\text{m}/\text{秒}$ となり、速度は変化しなかった。また、トリプシン処理はダイニンを切断するが、エラスターゼ処理はダイニンをほとんど切断しないことが確かめられた。したがって、トリプシン処理軸系におけ

る速度の上昇は、外腕の切断と関連している可能性が高い。

そこで、トリプシン処理により生ずる断片がエラスターゼにより誘導される滑り速度に与える影響の解析を行った。軸糸から大部分の外腕を取り除き、約5%の外腕とほぼ全ての内腕の存在する軸糸を作成する。この軸糸とトリプシン処理ダイニン断片とを反応させ、断片が軸糸に再結合するのか、さらにこの軸糸にエラスターゼ処理による滑りを誘導した場合、その速度が上昇するのかを検討した。軸糸から高塩濃度処理により抽出した粗抽出外腕ダイニンでも精製した21 Sダイニンでも、トリプシン処理後軸糸に結合し、滑り速度を有意に上昇させた。この速度上昇の効果は、ダイニンをATP存在下でトリプシン処理した時に見られ、外腕を全て取り除いた内腕のみの軸糸に再結合させても見られなかった。また、外腕ダイニンの2つの重鎖の内の α 重鎖がトリプシン処理により切断されていること、切断により生じた350 kDa断片がATP存在下で軸糸に再結合していることが確かめられた。これらはいずれも新しい発見である。

さらに、トリプシン処理により外腕と内腕の存在する軸糸に滑りを誘導した場合にも、同様のトリプシン断片が生ずる結果滑り速度上昇が起こるかを調べた。滑り終わった後のダブレット上に残るダイニンを高塩濃度処理で抽出し、その効果を見たが、エラスターゼ処理による滑りには変化が見られなかった。これに対し、トリプシンによる滑り誘導後の上清を調べたところ、エラスターゼによる滑りの速度上昇が見られた。上清をショ糖密度勾配遠心により分画し速度上昇の因子を探索した結果、350 kDa断片を含む画分が速度上昇の効果を示した。以上の結果は、外腕の350 kDaトリプシン断片が、速度上昇の主要な因子であり、この因子が切断を受けていない外腕ダイニンとダブレット微小管を介して相互作用することにより、滑り速度を上昇させると考えられる。

本研究では、ウニ精子鞭毛において外腕と内腕の存在する軸糸の微小管滑り速度はトリプシン処理外腕断片の働きにより上昇することを初めて明らかにした。滑り速度をパラメーターとして、ダイニン相互の活性の協調的制御を捉えることに成功したという点でこの成果の意義は大きい。

なお、本論文は、真行寺千佳子氏との共著であるが、論文提出者が主体となって実験、解析を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。