

論文審査の結果の要旨

氏名 池田一穂

真核生物の鞭毛繊維毛は9本の周辺微小管が局所的に滑り運動を行うことによって屈曲運動を行う。その運動機構においては、周辺微小管同士を結合する弾性的線維構造（ネキシンリンク）が重要な役割を果たしていると考えられている。ネキシンリンクは電子顕微鏡観察によって軸糸微小管上に約100 nmの周期で存在し、蛋白質分解酵素で容易に分解されることがわかっているが、その分子の実体はまだ明らかになっていない。本論文は、そのリンク構成蛋白質を同定することを目的にして行った研究について述べたものである。研究の結果申請者は、ネキシンリンクそのものではないが、その構造と密接に関連すると思われる新規蛋白質を発見することに成功した。

本研究ではネキシンリンク構成蛋白質の同定のために、軸糸に様々な抽出・解体処理を施し、その際に軸糸の解体と同時に失われる蛋白質を検索するという方法が用いられた。特に有効であった方法は、ATP存在下における蛋白質分解酵素処理である。これにより、軸糸は周辺微小管の滑り運動を伴いながら解体されるが、その際、分子量72 kDの蛋白質（Rib72）が解体の進行と同じ時間経過で失われることが明らかになった。その蛋白質を精製してアミノ酸配列を決定し、さらにその配列をもとにしてPCRを行って、cDNAを得た。その結果、この蛋白質はC末端部分にカルシウム結合ドメインを持つ新規蛋白質であることが判明した。これと相同な蛋白質はヒト、ショウジョウバエなど鞭毛繊維毛を持つ生物に広く存在していたが、いずれも機能未知蛋白質として登録されているものであった。また、ミネソタ大学研究者との共同研究により、この蛋白質が周辺微小管中のリボン構造と呼ばれる構造に含まれることが明らかになった。

大腸菌で発現した蛋白質を抗原として抗体を作製し、間接蛍光抗体法、免疫電子顕微鏡法で軸糸内の局在を調べたところ、この抗原は無処理の軸糸微小管上ではネキシンリンクの繰り返し周期と同様に約100 nmの周期で存在したが、

界面活性剤サルコシル処理によって部分分解した周辺微小管上では10-20 nm 間隔という高密度で存在することが判明した。また、軸糸を蛋白質分解酵素で処理して滑り運動を誘発すると、この蛋白質は軸糸の解体と同様の時間経過で実際に分解されることが認められた。その際、すべての Rib72 分子からまず 10 kD 程度の断片が切り取られることが判明した。これらのことから、Rib72 はその大部分が周辺微小管内に埋もれて存在するが、一端から 10 kD 程度の部分が蛋白質分解酵素の結合が可能な状態で微小管表面に露出していること、また、抗体の結合が可能な状態で露出した分子が 100 nm ごとに存在することが示唆された。

以上の結果より、申請者は、Rib72 はネキシンリンクそのものではないが、それと何らかの相互作用を行う蛋白質である可能性が大きいと結論している。いずれにしても、この蛋白質は様々な生物種の軸糸に普遍的かつ比較的多量に存在する蛋白質であることから考えて、軸糸の構築に重要な役割を果たしていることは間違いないものと思われる。したがってこの蛋白質を同定した本研究は、軸糸の構築と運動機能の研究に大きく貢献するものと評価できる。

なお、本論文は本研究科の八木俊樹、広野雅文、神谷律、およびミネソタ大学の Jennifer Brown, Jan Norrander, Eric Eccleston, Richard Linck 各博士との共同研究であるが、論文提出者が主体となって実験および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。