

# 論文審査の結果の要旨

氏名 中野 泉

本研究は、 $\text{Ca}^{2+}$ による鞭毛ダイニンの活性制御機構について解明することを目的とし、新しい実験系を用いて行われた。本論文は2部から構成され、第1部では、「中心小管を介した $\text{Ca}^{2+}$ による微小管滑り運動の制御機構」について、第2部では、「 $\text{Ca}^{2+}$ による微小管滑り運動の制御に及ぼす外腕抽出の効果」について述べられている。

真核生物の鞭毛・繊毛運動は、外腕・内腕ダイニンによって起されるダブルット微小管間の滑り運動を原動力としている。 $\text{Ca}^{2+}$ は鞭毛・繊毛運動の制御に関与することが知られているが、その機構は未だ解明されていない。これまでの研究から、滑りの制御には鞭毛軸糸の中央に位置する中心小管が重要な役割を果たしていると推測されている。本論文の共著者である吉村博士によって開発された新しい滑り解析系を用いた実験は、滑り速度の制御における中心小管の役割を明らかにできる実験系として注目される。しかし、 $\text{Ca}^{2+}$ による制御と中心小管とのかかわりについては明確には示されていなかった。

本研究の第1部では、 $\text{Ca}^{2+}$ によるダイニン活性の制御における中心小管の役割を明らかにすることを目指した。まず滑り解析系の改良が行われ、その結果、より安定した微小管滑り運動の解析が可能となった。ウニ精子鞭毛の軸糸（外腕と内腕とを持つ）をエラストアーゼ処理し、高濃度 ATP、高濃度  $\text{Ca}^{2+}$ の条件下で滑りを誘導すると、軸糸は太い束と細い束の2本の束に別れるように滑る。太い束には中心小管が含まれていることを小林博士が示した。それぞれの束の端のダブルット上にはダイニンが露出している。重合微小管を環流してダイニンと相互作用した微小管の滑り速度を解析した結果、低濃度  $\text{Ca}^{2+}$ では、細い束上でも太い束上でも約  $5\mu\text{m}/\text{sec}$  で滑った。高濃度  $\text{Ca}^{2+}$ では、細い束上の滑り速度は変化しなかったが、太い束上では有意に低下した。さらに、滑りの起こる頻度は、太い束上のみで高濃度の  $\text{Ca}^{2+}$ により低下した。これらの結果は、ダイニンの滑り活性が中心小管を介して高濃度  $\text{Ca}^{2+}$ により抑制されることを直接的に示した初めての成果である。

第2部では、外腕と内腕の  $\text{Ca}^{2+}$ による活性制御の機構を明らかにすることを目指した。第1部と同様の手法で、外腕を抽出して内腕のみとなった軸糸から

えたダブルレットの太い束と細い束上の微小管の滑りを解析した。いずれの束上においても滑り速度は一定で  $\text{Ca}^{2+}$  による変化が見られなかった。しかし、太い束上の滑り頻度は高濃度  $\text{Ca}^{2+}$  により低下したので、内腕の滑り活性も中心小管を介して高濃度  $\text{Ca}^{2+}$  による抑制を受けることが示された。また、2本の束に別れるような滑りを誘導する条件は、外腕の存在により変化することが見いだされた。外腕と内腕が存在する場合には、低濃度 ATP では  $\text{Ca}^{2+}$  濃度によらず複数のダブルレット間で滑りが起こるが、高濃度 ATP では1ヶ所または2ヶ所のダブルレットでのみ滑りが起こり軸糸は2本または3本に別れる。これに対し、内腕のみの軸糸に滑りを誘導すると、低濃度  $\text{Ca}^{2+}$  では滑りが起こるが、高濃度  $\text{Ca}^{2+}$  では滑りがほとんど起こらない。この滑りの抑制の原因は、内腕の ATPase 活性そのものが高濃度  $\text{Ca}^{2+}$  状態では強く抑制されていることによるらしいことが示された。さらに、外腕と内腕を持つ軸糸において高濃度 ATP によって起こされる2本の束に別れるような滑りは、ADPを加えると解除され、複数のダブルレット間で滑りが起こるようになった。しかし、内腕のみの軸糸ではそのような滑りの抑制の解除は見られなかった。

以上のように、中心小管を介した高濃度  $\text{Ca}^{2+}$  による滑り速度の抑制には外腕が重要な働きをすること、内腕ダイニンの滑り活性も  $\text{Ca}^{2+}$  により抑制的に制御されており、中心小管がその制御機構に関与していることが示された。一方、外腕ダイニンが存在するときには中心小管を介した  $\text{Ca}^{2+}$  による制御とは独立に、低濃度 ATP や ADP によるダイニン活性制御機構が存在するらしいことが示唆された。

本研究において、生理的 ATP 濃度（高濃度 ATP 条件）では、軸糸内の内腕・外腕ダイニンの活性が  $\text{Ca}^{2+}$  により抑制的に制御され、その制御機構に中心小管が必須であることが明らかとなった。このことは、長い間謎とされてきた  $\text{Ca}^{2+}$  による鞭毛波形の変化の基本が、ダイニンの滑り活性の抑制にあることを示したという点で重要なばかりでなく、その役割が注目されている中心小管の機能をより深く理解する上で重要な発見であるといえることができる。

なお、本論文は、小林剛氏・吉村（渡辺）美幸子氏・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。