

論文審査の結果の要旨

氏名 松浦 公美

本論文は真核生物の鞭毛と鞭毛基部体の形成機構を突然変異株の解析によって解明しようとする研究について述べたものである。真核生物の鞭毛・繊毛は9組のダブルット微小管が中心の2本のシングレット微小管を取り囲んだ、精巧な構造をもっている。特に、鞭毛繊毛の基部にある基部体（基底小体：basal body）は動物細胞一般に見られる中心小体と相同なオルガネラで、細胞周期に応じて同一の構造が複製されるというめざましい特徴がある。そのような構造がどのように生じるから細胞生物学の重要問題である。しかし、これまで電子顕微鏡による形態学的な観察以外には、形成機構の解明にむけた研究はほとんど行われていなかった。そこで申請者は本研究において、鞭毛と基部体形成の機構に迫るため、クラミドモナスから鞭毛欠失変異株を大規模に単離し、その変異遺伝子を同定することによって基底小体構成蛋白質を探索することを試みた。

本論文は3部からなり、第I部では、insertional mutagenesis法を用いた変異体の作成と、それらの予備的解析の結果を述べる。約10,000株の変異体を作成し、その中から鞭毛を完全に欠失した変異体を74株単離した。これらについて、遺伝子の解析が容易なものから解析をすすめ、6株について、変異の近傍領域を含む野生型ゲノムクローンを得たことが述べられている。

第II部では、変異株2F10の解析結果が述べられている。この株は、基底小体は正常であるが、鞭毛を全く形成できない変異株であった。変異遺伝子同定の結果、キネシンIIのモーターサブユニットの1つ、FLA10を完全に欠失したnull mutantであることが判明した。これまで、キネシンIIは鞭毛軸糸形成の他に、分裂時の紡錘体微小管の形成にも関与しているのではないかと示唆されていたが、この変異株の解析から、その可能性は否定され、キネシンIIは鞭毛形成に特異的に働くモーター蛋白質であると結論された。

第III部では、基底小体（中心小体）をほぼ完全に欠失した新種の変異株***bld10***の解析結果が述べられている。高等真核生物ではもちろん、クラミドモナスに

においても、このように中心小体を完全に欠失した変異株が単離されたのは本研究が初めてである。*bld10* では分裂時の紡錘体の形態が異常な細胞が多く、基底小体の MTOC（微小管形成中心）としての機能にも異常があると考えられる。*bld10* の変異の原因遺伝子を同定したところ、分子量 165 kDa のコイルド・コイル構造を多く含む新規蛋白質の遺伝子であることが分かった。間接蛍光法により、野生株細胞内の間期には基底小体の位置、分裂期では紡錘体の極である中心小体の位置に局在することが判明した。さらに、免疫電子顕微鏡法観察の結果、この蛋白質は基底小体の最も細胞中心に近い側にある、cartwheel とよばれる繊維状構造に局在することが明らかになった。この構造は中心子形成過程のごく初期に現れるものであることが知られている。これらの結果から、Bld10p は、基底小体形成の初期過程に重要な役割を果たす蛋白質であると考えられる。

以上のように、本研究では鞭毛欠失変異株の解析から基底小体を構成する新たな蛋白質の同定に成功した。これまで多細胞生物においては基底小体（中心小体）を欠失した突然変異体は致死になると考えられ、したがって基底小体（中心小体）形成機構の遺伝学的研究には限界があると考えられてきた。本研究はそのような考えを覆し、クラミドモナスにおいては基底小体（中心小体）を欠失した変異株が単離でき、その遺伝子を同定できることを示すものである。この分野の発展のために、画期的なことであると言える。また本研究は本研究科の広野雅文、神谷 律、およびミネソタ大学の Lefebvre 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。