

細胞という生命の単位が効率よく活動するために、細胞内の物質輸送をはじめとして、細胞の移動や細胞分裂を行うことが必須である。これらの細胞運動は、細胞骨格であるアクチンフィラメントや微小管とそれぞれに特有な相互作用をするモータータンパク質の働きによるものであり、それらの分子機構を明らかにすることは、生命活動の理解にとって重要な課題である。モータータンパク質のうち、ミオシン、キネシンについては多くの研究がなされ、その分子メカニズムがかなり解明されてきた。一方、キネシンと同じ微小管のモーター分子でありながら、ダイニンは巨大で複雑な複合体であるためにその機構は未解明の部分が多い。鳥羽栞さんは、「複数頭部を持つダイニン分子の分離と分離頭部の運動特性」と題した研究課題において、3頭構造を持つ軸糸ダイニンおよび2頭構造を持つ細胞質ダイニンのそれぞれの頭部を単離して、その運動特性を調べ、ダイニンの運動の素過程に解明に寄与する新たな知見を見出した。

第1章においては、テトラヒメナ繊毛より抽出した外腕(22S)ダイニンの3頭の重鎖について厳密にコントロールした尿素処理を行い、双頭部(19S)と単頭部(14S)を分離することに成功した。このようにして得られたダイニンフラグメントは、以前に報告されているタンパク質分解酵素による3頭の分離とは異なり、全長のダイニン重鎖を含んでいる。抗体による検出や、ダイニンに特有の UV-cleavage という方法を使って、単頭部は α 鎖、双頭部は β 鎖と γ 鎖よりなることを明らかにした。さらに、微小管の運動活性を調べた結果、双頭部は3頭より速く微小管を運動させることを報告している。単頭部は ATPase 活性を保持しているが運動活性を示さず、微小管に強く結合した。分離した双頭部と単頭部は適当な条件下では再び3頭に再構成されることも確認した。これらの結果から、単頭 α 鎖は軸糸内でダブルレット微小管の A 小管に強く結合して外腕ダイニン全体を構造的に支える役割を担うというモデルを提出している。これらの新たな知見に加え、ダイニンモータードメインが尿素処理によってもその運動活性を失わないことを示したことは、大きな進展であり、以降のダイニン分子メカニズムの研究に影響を与え、貢献するものであると評価できる。

第2章は、どのような細胞にも普遍的に存在する細胞質ダイニンについての研究報告である。細胞質ダイニンは、精製の最終段階まで種々のアクセサリタンパク質を結合している。特に、細胞内ではダイナクチン複合体、LIS1、NUDEL といったタンパク

質はダイニンの機能に必須であるということが示されてきた。今回の鳥羽さんの研究では、まず、複数のイオン交換カラムクロマトグラフィーとショ糖密度勾配遠心分離により、このようなタンパク質をすべて除いて非常に純度の高い細胞質ダイニンを得た。この試料を用いて微小管の運動活性を調べることにより、アクセサリタンパク質がなくてもダイニンには運動機能があることを示した。さらに、この双頭細胞質ダイニンに第1章で開発した尿素処理の技術を応用して、完全に単頭となるような分離を行った。また、尿素を除く過程において再び双頭構造を形成することも可能で、尿素処理による重鎖の分離は可逆であることを明らかにした。これらの双頭と単頭の細胞質ダイニンのATPase活性はほぼ等しく、また微小管をすべり運動させる能力においても、ほとんど差がないことを示した。これらの結果から、細胞質ダイニンは多分子で微小管と相互作用する場合には機能的な差異はなく、1分子内の2つの頭部の間の連絡が運動機能にとって必須ではないという結論を導いた。

以上のように、本研究は、複数頭部を持つダイニン分子を扱い、それらを活性のあるフラグメントとして分離することに成功し、その運動特性を明らかにした。その結果、ヘテロ3量体である軸糸外腕ダイニンについてはそれぞれの重鎖が繊毛運動において異なる機能を担っていること、ホモ2量体である細胞質ダイニンについては、分子内の2つの頭部の間の協調性が運動に必須でないことが明らかになった。したがって、本審査委員会は博士（学術）の学位を授与するにふさわしいものと認定する。