

論文審査の結果の要旨

氏名 石川里奈

本論文は、要旨 (Abstract)、序章 (Introduction)、方法 (Materials and Methods)、結果 (Results)、考察 (Discussion)、謝辞 (Acknowledgements)、参考文献 (References)、表と図 (Tables and Figures) から構成されている。

真核生物の鞭毛運動の特徴である振動運動については、多くの知見が得られているが、その制御機構の全容は未だに明らかにされていない。中でも興味深いのは、屈曲が鞭毛の根元でくり返し作られ、先端へと伝播することである。屈曲の形成は、鞭毛内の微小管間にダイニンによって起こされる滑り運動によること、滑りの量の差のある部分に屈曲ができること、この屈曲形成能は鞭毛のどの部分にもあること、が知られている。しかし、どのような仕組みで屈曲が振動となるのかは明らかではない。この振動開始機構解明のむずかしさの要因の一つは、振動の要素、すなわち屈曲の形成、成長と伝播、逆方向への屈曲形成が、連続的に起こることにある。ところで、これまでの研究から、機械的に鞭毛を変形することにより、鞭毛運動の変化やダイニンの活性化が誘導できることが知られている。このことは、ダイニン活性化の調節に力学シグナルが関与することを示唆する。本論文は、この力学シグナルの役割に着目し、新たな振動運動解析法を構築するという試みからスタートしている。まず、振動の要素が連続的であることから、この連続性を抑制する条件を編み出した。膜を除去したウニ精子鞭毛は、通常の運動に必要な ATP 濃度の 1000 分の 1 の濃度下では自発的に運動できない。ここに力学シグナルを与えることにより振動を誘導するのである。このアイデアは斬新であり、これまでの研究には例を見ない独創的な発想を含んでいる。この手法により誘導された反応は、振動の要素を段階的に示すという興味深い結果が得られた。さらに、この手法により、従来からダイニン活性の制御に関与することが示唆されている ADP の役割についても新たな知見を提示した。また、鞭毛の前方と後方の特性の違いについても興味深い結果を得ている。以下に、特筆すべき成果について概要を述べる。

中心的手法は、精子頭部をガラス微小針で保持し、もう 1 本の針で鞭毛先端

を押さえてこの針を動かす事により鞭毛に変形を与えるというものである。この手法では、安定した変形を与えられる。しかし、もう1つの手法（頭部のみを押さえその針を軽く揺らす）では変形は一過的に与えられるので変形の持続的影響を排除できる。この両手法により得られた結果がほぼ一致したことは、両者に共通する力学シグナル誘導条件が一定であることを示唆しており、結果の信頼度は高い。

自発的運動をしない鞭毛において、ATP濃度が2.0 μM 以上の時に力学シグナルにより振動運動が誘導された。興味深いことに、ADPが少し(1.5 - 10 μM)でも存在するとこの閾値濃度は、1.5 μM となった。ATPのみの時は、ATP濃度が上がるに連れて、誘導される振動の周波数は上昇したが、1.5 μM ATPとADPとが存在する時に誘導される振動運動の周波数はADP濃度により変化しなかった。ADPは、単にATPに加えても振動は誘導できないが、変形を与えれば振動が始まる。このことから、ADPのダイニンへの結合が力学シグナルにより誘導され、それがダイニンの化学-力学変換を促進する可能性が考えられ、今後のダイニンの活性制御機構の解明にとって大きな意味を持つ結果といえる。閾値濃度が何を意味するかについては、今後さらに検討が必要であろう。

鞭毛の前方と後方との反応性の違いについては、これまでも示唆されているが、本論文により、振動は後方でも誘導されるが、前方がより誘導されやすいこと、一对の屈曲形成が振動の誘導に必須であり、その際一对の屈曲の後方の屈曲の成長が誘導されるかどうか重要な条件となるらしいことが明らかとなった。この後方の屈曲の成長が一对の屈曲の前方の屈曲の成長へと導かれて、振動に至る。この結果は、これまでの予想を明確に裏付けるものである。

本論文では、屈曲形成、伝播、一周期の運動、振動運動、という段階的反応の誘導に成功している。この現象と、力学シグナルによるADP結合との関係を明らかにできれば振動運動制御の全容解明へより近づくことができると期待され、大きな意義のある研究である。以上のように、本論文の成果は、鞭毛の振動運動開始機構解明に向けて多くの示唆に富む知見を示したものである。

なお、本論文の一部については、真行寺千佳子との共同で行ったものであるが、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。