

論文審査の結果の要旨

氏名 吉村 安寿 弥

本論文は、謝辞 (Acknowledgements)、目次 (Contents)、要旨 (Abstract)、序章 (Introduction)、方法 (Materials and Methods)、結果 (Results)、考察 (Discussion)、参考文献 (References)、表 (Table)、図の説明と図 (Legends and Figures) から構成されている。

真核生物鞭毛の運動制御機構についてはこれまでに多くの知見が得られているが、そ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、制御に組込まれていることが明らかな「力学的シグナル」と「化学的シグナル」がどのように統合されているのかという点である。鞭毛の屈曲は、ダイニンが微小管間に起こす滑り運動により作られるが、この屈曲そのものが滑りの状態を調節するという、力学シグナルによる自律制御の系を内包している。また、微小管間の滑りの制御には、鞭毛の中心に位置する 2 本の中心小管を含む中心小管／ラディアルスポーク系と総称される構造が重要な役割を担い、この系を介したダイニンの運動活性制御には、力学シグナルと共にタンパク質のリン酸化・脱リン酸化などの化学シグナルが関わることを示されている。これらのシグナルによる制御が鞭毛の運動制御の基本であるとするならば、それらはダイニンの運動活性を統合的に制御していると推測されるがその機構は明らかではない。ところで、これまでの研究から、ダイニンの運動活性制御にはユニークな特徴があることがわかっている。それは、エネルギー源として用いられる ATP が、条件によってはダイニンの活性を抑制する作用を示すことである。さらに、ATP の加水分解産物である ADP が、この抑制を解除する効果も報告されている。このことから、ATP と ADP が、ダイニンの活性制御に必須の因子である可能性が示唆されてきたが、それらがどのように鞭毛運動の制御に組込まれ、前述の力学シグナルや化学シグナルと相まってダイニンの機能制御を行うのかについて、示唆を与えるような仮説はこれまでに提示されていなかった。

本論文は、鞭毛運動制御における ATP, ADP の役割を明確にする仮説を提示することを目指し、ATP, ADP の作用による鞭毛運動の活性化と抑制を可逆的

に操作できる実験条件を探索することから研究がスタートしている。具体的には、ウニ精子の除膜鞭毛を用い、生理的条件の範囲で pH を下げた時 (pH7.0-7.2) の、生理的高濃度の ATP による運動抑制と低濃度による運動の持続に着目した結果、高濃度の ATP による運動抑制を解除する条件と、低濃度の ATP による運動を抑制する条件を見いだすことに成功した。前者は ADP を前処理しておくだけで解除されること、後者は、脱リン酸化により抑制されること、脱リン酸化に伴って鞭毛 (ダイニン) への ADP の結合が有意に低下することを見いだした。ADP の結合状態 (処理後約 3 分持続する) がダイニンの運動活性制御に重要であると推測されるが、これは最近報告されているダイニンのヌクレオチド結合特性とも一致する。更に、高濃度 ATP による運動停止状態の鞭毛は、S 字の屈曲を残しており、ダイニンが微小管と架橋を形成したまま安定状態となっていることが示された。興味深いことに、高濃度の ATP による運動の抑制は、外腕ダイニンの機能と密接に関わり、外腕を除去した鞭毛では運動の抑制が起こらなくなる。

さらに、本論文の後半では、このような ATP, ADP による制御が、実際の生理的運動持続時にも組込まれているのかどうかを、斬新な手法で検討している。通常の生理的条件である pH8.0 では、高濃度の ATP でも低濃度の ATP でも運動が持続し、停止は見られない。そこで、鞭毛内で微小管同士をつなぎ止めている構造を、エラスターゼ処理により徐々に消化していった時に、鞭毛運動が持続するかを解析した。その結果、生理的 pH 条件下でもダイニン自体が高濃度の ATP 存在化では架橋の役割を担いうること、その機能はリン酸化・脱リン酸化と関わることを示された。これらの結果から、ダイニン分子内にある加水分解を行わないヌクレオチド結合部位への ATP の結合が運動活性の抑制を、一部の結合部位への ADP の結合が活性化を引き起こし、これらの結合はリン酸化と脱リン酸化により制御されているというモデルが提示された。力学シグナルとの関連は、今後の課題であるが、本研究により追求すべき方向が明確となった。

以上のように、本論文の成果は、鞭毛の運動制御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、中野泉・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。