

論文審査の結果の要旨

氏名 平木 まどか

本論文は、特徴的な構造のオルガネラ、中心子の構築における Bld10 蛋白質の機能を解析した結果をまとめたものである。全 2 部からなり、第 1 部では Bld10 蛋白質の生化学的な解析の結果について、第 2 部では、蛋白質配列の部分欠損が中心子構造に及ぼす影響を調べた結果について述べている。

中心子は真核生物に広く存在するオルガネラで、9 本の 3 連微小管が回転対称に配置した特徴的な構造をもつ。この 9 回対称性はほとんどすべての中心子に共通するものだが、これがどのようにして構築されるかはわかっていなかった。2004 年に松浦らは、中心子を完全に欠失したクラミドモナス変異株 *bld10* を単離し、その変異遺伝子産物 (Bld10 蛋白質) が中心子の内腔にあるカートホイールという、中心子構築過程で最初に現れる 9 回対称性構造に局在することを明らかにした。論文著者は、Bld10 蛋白質の中心子構築における機能を解明することを目的に研究を行った。

第 1 部では、生化学的な手法を用いて Bld10 蛋白質の自己会合性について解析した結果が示されている。この蛋白質は分子量約 170 k で、全長がコイルドコイルをとると予測される新規の蛋白質である。論文著者は、組換え Bld10 蛋白質や単離した中心子に対する化学架橋処理を行い、得られた架橋産物の分子量から Bld10 蛋白質は試験管内で 2 量体を形成する性質があり、中心子内においても実際に 2 量体として存在することを明らかにした。さらに、その 2 量体におけるモノマーの対合様式が *parallel* なのか *antiparallel* なのかを検討するため、N 末端または C 末端を欠損した Bld10 蛋白質を発現した細胞から中心子を単離し、それを化学架橋した。架橋可能なアミノ酸残基は N 末端または C 末端に偏って存在するが、いずれを欠失しても架橋産物が得られたことから、この蛋白質は中心子内に *parallel dimer* として存在すると結論した。さらに、組換え Bld10 蛋白質のゲルろ過クロマトグラフィーおよび非変性条件下の電気泳動解析を行い、2 量体がさらに会合した多量体を形成する可能性も示した。Bld10 蛋白質のもつこれらの性質はこれまで全く知られていなかったものであり、この蛋白質の中心子構築における機能を探る上で基礎的なデータとなるものである。

第2部では、遺伝子改変技術を用いて Bld10 蛋白質の中心子構築における機能解析を行った結果が述べられている。論文著者は、N 末端または C 末端を欠損した様々な長さの *BLD10* cDNA を作製し、それらを変異株 *bld10* に導入して発現させた。N 末 44%または C 末 23%を欠失させても中心子構造は正常であったため、これらの末端部位は Bld10 蛋白質の機能には必要ないことが明らかとなった。しかしそれ以上欠失させるとカートホイールのスポーク先端部が細くなって、スポーク長が短くなるといった異常が生じることがわかった。このような直径が小さいカートホイールができると、その円周上に微小管が 9 本配置することができなくなって、8 本の 3 連微小管からなる中心子がしばしば観察されるようになった。この結果は、カートホイールが中心子微小管の形成の足場として働くことを示している。Bld10 蛋白質がスポーク先端に局在するという免疫電子顕微鏡観察の結果とあわせ、論文著者は Bld10 蛋白質がスポーク先端部を構成し、カートホイールの直径を適正に維持するとともに、3 連微小管をカートホイールに結合させる機能をもつと結論した。この結果は、Bld10 蛋白質の機能を明らかにするとともに、中心子の 9 回対称性構築にカートホイールを基盤とする機構が存在することを初めて示した重要なものである。

なお本論文の第2章は中澤友紀・神谷律・廣野雅文との共同研究であるが、論文提出者が主体となって研究を遂行したもので、論文提出者の寄与が充分であると判断する。従って、博士（理学）の学位を授与できると認める。