

論文審査の結果の要旨

氏名 林 周一

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

真核生物の鞭毛運動は、筋肉と並ぶ生物の持つ 2 大運動系の一つであり、その運動の最大の特徴は、周期的屈曲を形成し伝播するという振動運動にある。この振動を生み出す機構については古くから生物学の謎の一つとして研究されてきた。近年、生理学や 1 分子レベルの機能解析手法などの発展により、鞭毛内に規則的に配列し、その運動を生み出す原動力を与えるモータータンパク質ダイニンの特性解析が飛躍的に進んだ。この結果、屈曲形成の基本となる微小管滑り運動の機構が次第に明らかにされてきた。しかし、運動装置としての鞭毛全体がどのような機構で振動を起こせるのかという滑り運動の制御機構の全容は明らかにされていない。

本論文は、振動運動を生み出す基本的制御と考えられている、微小管滑り運動の切り換え制御機構を明らかにすることを目指し、切り換え制御を誘導する屈曲方向の検討、切り換えが起こっていることの直接的証明、切り換えを起こす際のダイニン活性の ADP による制御の検討、という 3 つの側面から実験を行った。ウニ精子鞭毛を用いて、屈曲が滑りの切り換えを誘導する可能性を示唆する研究が最近報告され、注目を集めている。しかし、この可能性を証明するためには、切り換えを確実に起こす実験条件の探索がまず必要であった。しかしこの探索は振動誘導条件の解明なくしては実現しない。本論文では手法上のいくつもの困難を克服し成果を得ている。結果は 6 つの節から構成され、第 1 節と第 2 節で条件の探索に成功している。この論文の独創的な点の一つは、この探索に精子鞭毛全体を用いたことにある。運動の機構を解析するために鞭毛装置全体を扱うことは、通常、解析を複雑にする。しかし、精子頭部側が微小管の遅い重合端にあたるという特性を生かし、光学顕微鏡レベルで微小操作を

行いながら、電子顕微鏡レベルの解析を実現している。まず鞭毛の膜をとった後、エラスターゼ処理後に caged ATP の UV 照射による光分解で放出される ATP を短時間与え、鞭毛内に特定の滑りを誘導した。そこへ微小ガラス針を用いて外部から屈曲を与え、さらに滑りを誘導すると屈曲方向に応じて滑り方向が逆転することを見いだした。興味深いことに既存の屈曲を残したまま鞭毛に滑りを誘導した場合と、既存の屈曲の後方で切断後に滑りを誘導した場合とでは、滑り方向の逆転を誘導する屈曲方向が正反対となった。反応の詳細な分析から、この有効な屈曲方向の違いは鞭毛に組込まれた滑りの切り換え機構の本質を反映していることが示された。これらの発見は単なる条件探索を超えて、滑りの制御機構の理解に大きく貢献しており、高く評価できる。第 3 節、第 4 節では、滑りの逆転の前後で滑り速度が有意に低下することを示すことにより、最も注目されていた「滑りの切り換えが鞭毛内の中心小管の両側に位置する主に 2 カ所のダイニン間で起こること」を見事に証明した。さらに第 5 節では滑り速度の解析から、滑りの逆転が誘導される際に反応開始の遅延が起こることを見だし、他の研究で示唆されてきた滑りの制御との対応を論じている。最後に、第 6 節では、ダイニンの滑り活性の制御に関わることが指摘されている ADP に注目し、屈曲により誘導される滑りの逆転が起こる際に、ダイニンの活性制御に ADP が必要なのかを検討する実験を行った。第 1-5 節では、pH 7.8、高濃度カルシウム条件で滑りを誘導しているがここではそれとは異なり、より低い pH 7.2、pH 7.5 の条件を用いた。また、apyrase, hexokinase のいずれかを用いて、与えた ATP を分解した。その結果、ADP の存在量に応じて、屈曲により誘導される滑りの方向の逆転の頻度が増加することが示された。これらの結果は、屈曲という力学情報がダイニンの活性を誘導する機構の一端を明らかにしたものであり、鞭毛運動のみならずダイニンの機能解析という視点からも重要な情報を提供している。

以上のように、本論文の成果は、鞭毛運動の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、真行寺千佳子と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。