

## 論文審査の結果の要旨

氏名 劉 中美

真核生物の鞭毛・繊毛運動は周辺微小管上に配列したダイニン外腕と内腕が微小管間で滑り力を発生することによって発生する。これらのダイニン腕には複数種の巨大な力発生タンパク質、重鎖、が含まれているが、それぞれどのような特性を持ち、どのように協調して働いているかは明らかではない。本研究はそのうちダイニン外腕の各重鎖の機能を、新たに単離したクラミドモナスの変異株を用いて追及したものである。本論文は2部からなり、第1部では、ダイニンに異常のある変異株の単離の試みが簡略に述べられ、第2部では第1部の研究で新たに単離された、ダイニン外腕 $\gamma$ 重鎖だけを欠失した変異株の詳細な解析結果が記されている。

第1部の研究では、突然変異誘発処理を行った約5000株のクローンから、運動性の悪い変異株26株を単離し、7株の新規な変異株を得た。遺伝解析と軸糸タンパク質解析の結果、そのうちの一つ *oda2-t* が、ダイニン外腕の3つの重鎖 ( $\alpha$   $\beta$   $\gamma$ ) のうち、 $\gamma$ 鎖だけを失った変異株であることが見いだされた。これまで $\alpha$ 、 $\beta$ の各重鎖を失った変異株は得られていたが、 $\gamma$ だけを失ったものは得られていなかった。*oda2-t* が得られたことにより、外腕3重鎖のすべてについて欠失変異株が揃ったことになる。このことは、ダイニン外腕の構造と機能の研究にとってきわめて重要である。

第2部の研究では、まず、*oda2-t* 変異株の遺伝子の解析から、この株が $\gamma$ 重鎖遺伝子全長4486アミノ酸残基のうち、N末の1270残基だけを発現していることを示した。ダイニン重鎖のN末側領域は一般に尾部と呼ばれ、軸糸ダイニンでは周辺微小管のA小管との結合部位であることが知られている。 $\gamma$ 重鎖すべてを失った株 *oda2* がダイニン外腕すべてを欠失しているのに対し、*oda2-t* は $\alpha$ 、 $\beta$ 鎖と頭部を欠失した $\gamma$ 鎖からなる外腕を持つ。このことは、ダイニン重鎖のN末部分が外腕全体の軸糸中での輸送と構築に必要な十分であることを示すものである。軸糸タンパク質組成の解析から、*oda2-t* の外腕では、 $\gamma$ 重鎖の頭部に結合することが知られている軽鎖 LC1 は欠失しているが、尾部に結合する LC4 は存在することが確認された。また電子顕微鏡像の解析から、ダイニン外腕中における $\gamma$ 重鎖は、外腕全体の基部付近に局在すること

が明らかになった。これまで、 $\alpha$ 、 $\beta$ 重鎖欠失変異株の外腕像から $\gamma$ 重鎖の局在が推測されていたが、この変異株の解析はそれを裏付ける結果である。

本研究の最も重要な知見は、外腕3重鎖のそれぞれを欠失した変異株の運動性の比較により、各重鎖の機能が大きく異なることがあきらかになったことである。これまで、 $\alpha$ 重鎖を失った外腕は一定程度の機能を持つが、 $\beta$ 重鎖を失った外腕はほとんど機能できず、それを欠失した変異株は外腕全部を失った変異株とほぼ同じ速度で泳ぐことが知られていた。 $\gamma$ 重鎖が失われた場合については未知数であったが、今回、oda2-t株の遊泳速度はダイニン外腕すべてを欠失した変異株oda2より1.5倍速いことが判明した。すなわち、外腕は $\gamma$ 重鎖を欠失してもある程度機能できるものと結論される。これまで $\gamma$ 重鎖は外腕の機能に必須であると考えられていたので、この結果は意外である。一方、クラミドモナス軸糸はカルシウムイオン濃度が高い条件では対称型の波形による運動を行うことが知られているが、oda2-tはその運動を行うことが困難であることが判明した。このことは、高カルシウム条件におけるダイニン外腕の機能発現には、 $\gamma$ 重鎖の存在が必要であることを示唆している。カルシウム結合性の軽鎖LCを結合していることと関連があると考えられる。また、一方軸糸のATPaseを比較すると、oda2-t軸糸はカルシウム濃度にかかわらず、野生株軸糸の1.3倍程度の高い値を示した。すなわち、 $\gamma$ 重鎖は外腕中でその運動性を高めつつ、全体のATP消費を抑える機能を持つものと考えられる。そのような知見が得られたのは、本研究が最初である。

以上のように、本論文で述べられている結果はダイニン外腕の各重鎖が果たす役割に関する重要な新知見を多く含み、今後のダイニンと鞭毛運動機構の研究にとって重要な意味を持つと考えられる。なお、本論文は九州工業大学高崎寛子氏、安永卓生氏、京都大学八木俊樹氏、Connecticut大学Miho Sakato氏、Steve King氏、東京大学中澤友紀氏、神谷律氏との共同研究であるが、論文提出者が主体となって実験および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。