

論文審査の結果の要旨

氏名 古田 茜

真核生物の鞭毛（繊毛）は多くの生物種に存在する細胞運動器官で、運動、発生、感覚受容などの機能に重要な役割を果たしている。鞭毛の内部構造（軸系）は9本の周辺微小管が2本の中心対微小管を囲んだ円筒状構造を持ち、周辺微小管上に配列した運動性タンパク質ダイニンが隣接する微小管間に局所的滑り運動を発生することによって、屈曲波を発生する。この運動機構の理解のためには、多数のダイニンの力発生とその制御機構を解明する必要があるが、現在のところ、複雑なダイニン分子の運動特性に関してはまだきわめて不十分な情報しか得られていない。鞭毛のダイニン（軸系ダイニン）には大別して外腕ダイニンと内腕ダイニンの2種がある。外腕は2-3種の力発生タンパク質（重鎖）を含み、内腕は1-2種の重鎖を含むものが複数種存在するという、複雑な構成を持つ。したがって、各重鎖がどのような特性を持ち、鞭毛運動発生においてどのように協調してはたしているのかは、重要な問題である。

そのような問題に迫るため、申請者は、緑藻類クラミドモナスの外腕ダイニンの運動特性を、顕微鏡下で運動を発生させる実験系（*in vitro* 運動系）を用いて詳細に検討した。この生物の外腕は α 、 β 、 γ の3重鎖を含むが、各重鎖を欠失した変異株が得られている。そこで、野生株ダイニン（ $\alpha\beta\gamma$ ）と、3種のミュータントの $\alpha\beta$ 、 $\beta\gamma$ 、 $\gamma\alpha$ の運動特性を比較することを主な目的とした。その目的のために、各ダイニンを再現性良くガラス面上に吸着させる新たな方法が開発された。

まず、これまで知られていなかった野生株ダイニンの運動特性の詳細な解析が行われた。滑り速度のATP濃度依存性から、最大滑り速度は約 $5\mu\text{m}/\text{秒}$ と決定された。この速度は、軸系中で微小管が滑る速度の約 $1/4$ である。滑り速度のダイニン密度依存性から、*duty ratio*（一回のATP加水分解サイクルに占める微小管との結合時間の割合）は0.08と算出された。この値は細胞内の物質輸送に関わるキネシン（*duty ratio* = ~ 1 ）や、細胞質ダイニン（*duty ratio* = 0.6）に比べて非常に小さい。このことから、外腕ダイニンは、多数の分子が共同して速い運動を発生するのに適したモーターであると結論された。また、これまで、数種の軸系ダイニンにおいて、運動性がADP存在下で上昇することが示されているが、クラミドモナス外腕ダイニンにおいても、ADPによる微小管滑り運動活性の上昇が見られることが明らかになった。

このように野生型ダイニンの最適運動条件を決定したのち、その条件で3種の変異型外腕ダイニンについて、微小管滑り速度と、ATP加水分解活性を測定した。その結果、 β 重鎖を欠失すると滑り速度もATP加水分解活性も低下するが、 γ 重鎖を欠失すると両者共に上昇することが分かった。興味深いことに、 α 重鎖を欠失すると野生型に比べて滑り速度は著しく低下するが、ATP加水分解活性は上昇した。野生型の $\alpha\beta\gamma$ ダイニン中で、 α 重鎖は、全体のATP加水分解活性を抑えつつ速い微小管滑り運動を作り出すことにより、運動の効率的化に寄与していることが示唆される。

これらの結果から、本研究は、外腕ダイニンの運動活性は異なる3つの重鎖の活性の単純な足し

合わせではなく、重鎖間で抑制などの相互作用があり、全体として効率の良い微小管滑り運動が作り出されていると結論した。このように明瞭に重鎖間の機能的相互作用の存在が示されたのはこれが初めてである。また、興味深いことに、*in vitro* の運動系では、外腕ダイニンの最大滑り速度は軸系中の滑りよりはるかに遅かった。これは、運動系の問題というよりは、ダイニンの特性の問題である可能性が大きい。鞭毛軸糸構造中では外腕ダイニンは高い密度で整列しており、外腕同士、および他のタンパク質と相互作用しながら機能していると考えられる。そのような相互作用によって、*in vitro* で見られる以上の高速運動が可能になっているものと考えられ、軸糸ダイニンの新たな興味深い性質が浮き彫りになったと言える。

総合すると、本論文で述べられた研究は、ダイニン機能研究のための新たな方法を開発するとともに、外腕ダイニンにおける重鎖間の相互作用に関する重要な知見を提供するものである。本論文は外腕ダイニン研究の今後の方向について重要な示唆を与えるものであり、博士課程としての十分な内容を持つものと認められる。また、本研究は論文提出者を含めて5人の共同研究であるが、論文提出者が主体となって行ったものであり、論文提出者の寄与が十分であると判断する。したがって、審査員全員一致で、申請者に博士〔理学〕の学位を授与できるものと認める。