

論文審査の結果の要旨

氏名 蒲原祐花

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

真核生物の鞭毛・繊毛は、細胞体の遊泳や物質の移動に関わり、流れの推進力を生み出す運動装置として働く。さらに、鞭毛・繊毛は外界からの刺激に応じて運動方向を制御する機能を持ち、この制御にカルシウムが重要な役割を果たす。このカルシウム依存性鞭毛反応の制御機構については古くから研究がなされ、なかでもゾウリムシが障害物にあたった時に遊泳方向を変える回避反応は、詳しく解析されている。それによれば、機械刺激によって生じた細胞膜の脱分極が引き金となり、細胞内カルシウム濃度が増大し、その後減少する。この変化に応じて繊毛打の方向が変化する結果、細胞体の遊泳方向が変化する。ウニ精子でも頭部先端への機械刺激により一時的に鞭毛運動が停止するとの報告がある。しかし、これらの機械刺激により誘導されるカルシウム依存性の鞭毛・繊毛運動の変化について、細胞内カルシウム動態の制御およびカルシウム依存性の鞭毛・繊毛運動の制御の全容は明らかにされていない。

本論文は、ウニ精子におけるカルシウム依存性機械受容反応に着目し、この反応の特性を明らかにするとともに、カルシウム流出入に関わる膜タンパク質等を明らかにすることにより、カルシウム動態制御のメカニズムを解明することを目指した。このためには、カルシウム依存性の鞭毛反応を誘導できる実験系の確立がまず必要であった。本論文では、遊泳中のウニ精子で機械受容反応を誘導する実験系の確立に成功し、さらに、この反応が規則性のある反応であるという特性を利用し、膜を介したカルシウム動態の解析を実現し、大きな成果を得た。結果は7つの節から構成されている。第1節では、遊泳中のウニ精子を用いて、規則的な一連の機械受容反応の誘導に成功している。この論文の独創的な点の一つは、精子のいわゆる回避反応を発見し、その特性を記載した

点にある。第 2 節では、誘導される鞭毛波形の曲率の変化から、未だ解明されていないカルシウムによる鞭毛の対称性の高い波形の特徴について論じている。第 3 節では、一連の機械受容反応における細胞内カルシウム濃度変化をカルシウム可視化実験から明らかにし、対称波を生み出すカルシウム濃度の条件が、これまでの説とは異なり、正常遊泳時より高いことを示している。第 4 節～第 6 節では、一連のカルシウム依存性機械受容反応の規則的波形変化と遊泳方向変化を指標として、カルシウムの流入と排出とに関わる膜タンパク質の特定とその特性解析を種々の阻害剤等を用いて実現し、カルシウム動態の全容をほぼ明らかにしている。鞭毛運動中の精子においてカルシウム動態に関わる膜タンパク質がどのタイミングで働くかを明らかにしたのは、本論文の快挙である。明らかになった主な点は、頭部先端の機械受容チャネルの機械刺激による活性化、これに続く電位依存性カルシウムチャネルを介したカルシウムの流入、この結果として鞭毛は停止反応を示す。この後、カルシウム濃度は、Plasma membrane Ca^{2+} -ATPase (PMCA) と K^{+} -依存性 $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{2+}$ exchanger (NCKX) の活性化により、徐々に減少し、運動を再開した鞭毛は一時的に対称波での直進遊泳を示し、その後、非対称波による通常の遊泳へ移行する。シアル酸鎖を持つ糖タンパク質の Flagellisialin もこの排出過程に関わることが明らかにされた。第 7 節では、カルシウムの流入と排出とに関わる膜タンパク質が、機械受容という特定の条件下のみならず、通常の精子遊泳中にもカルシウムの流入と排出を制御している可能性を提示している。これらの結果は、ウニ精子を用いて、カルシウム依存性機械受容反応の制御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細胞膜を介した機械受容反応性の制御およびカルシウム動態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、カルシウム依存性機械受容反応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、柴小菊博士、吉田学博士、佐藤ちひろ博士、北島健博士、真行寺千佳子博士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。