

# 論文審査の結果の要旨

氏名 久保智広

チューブリンのポリグルタミン酸化修飾は真核生物に広く見られる現象であるが、その機能的意味はまだ十分明らかではない。本論文で述べられている研究は、新たに発見されたクラミドモナス突然変異株を用いて、その修飾が軸糸ダイニンの運動活性に大きな影響を与えることを示したものである。

本論文は3部からなる。第1部では鞭毛軸糸チューブリンのポリグルタミン酸化修飾が減弱したクラミドモナスの突然変異株 tpg1 を解析した結果が述べられている。第2部ではチューブリンポリグルタミン酸化が内腕ダイニンの1種に大きな影響を与えるという発見が述べられている。第3部では tpg1 株と類似の表現形を示す新規変異株 tpg2 の解析結果が述べられている。

第1部で使われた突然変異株 tpg1 は、過去に研究室内で得られチューブリンポリグルタミル化酵素の1つ TTLL9 の異常が疑われていたものである。申請者は遺伝子の解析により tpg1 が TTLL9 に変異を持つことを確定し、さらにポリグルタミン酸化チューブリンに対する特異的な抗体を用いて、この株の軸糸ではポリグルタミル酸化が著しく減弱していることを示した。また、免疫電子顕微鏡法により、ポリグルタミン酸化が周辺微小管のB小管に特異的に起こることを示した。tpg1 株の運動性は野生株に比して約70%に低下しているにすぎなかったが、ダイニン外腕を欠失する変異との2重変異株では運動性が完全に失われることが判明した。さらに興味深いことに、この2重変異株の軸糸をプロテアーゼとATPの存在下で解体させると、微小管は外腕を欠失しているだけの軸糸よりも高速で滑り運動を行った。ポリグルタミン酸化が無い軸糸微小管は表面の負電荷が少ないため、ダイニンとの摩擦が少ないと考えられ、そのことが高速滑り運動の原因である可能性が考えられる。いずれにしても、以上のことから、チューブリンポリグルタミル酸化の欠損は内腕ダイニンの機能に大きな影響を与えることが示唆された。

軸糸内腕ダイニンには主要なものだけでも7種(分子種a-g)が存在する。第1部で示された内腕ダイニンに対する影響は、そのうちどのダイニンに対するものであろうか。第2部では、この間に答えるために行われた実験結果が述べられている。さまざまな内腕欠損突然変異株と tpg1 の2重変異株を作製して運動性を調べたところ、内腕ダイニン分子種eを欠失した変異株においてだけ、tpg1 変異の有無による影響がほとんど観察されなかった。このことは、チュー

プリンポリグルタミン酸化がダイニン e に対して特異的に大きな影響を与えていることを示唆する。ダイニン e の微小管結合サイトはすべての軸糸ダイニン中で最も塩基性の等電点を持つので、微小管との静電相互作用が最も大きい。ポリグルタミン酸化修飾がこのダイニンに特に大きな影響を与えるのは、そのような静電相互作用の重要性の反映であるという考察が述べられている。

第 3 部で述べられている研究では、tpg1 に類似した新規突然変異株 tpg2 の解析により、その変異株が FAP234 という機能未知の軸糸タンパク質に異常があることが見いだされた。興味深いことに、このタンパク質はポリグルタミン酸化酵素 TTLL9 と複合体を作ることが明らかになった。その機能は今後の課題であるが、修飾酵素の輸送や局在に関連している可能性が考えられる。今後チューブリンポリグルタミン酸化修飾の機構を研究する上で重要な発見であろう。

以上のように、本学位論文で報告されている研究は、これまで機能がほとんど明らかになっていなかったチューブリンポリグルタミン酸化修飾について、それが内腕ダイニン、特にダイニン e という一種に大きな影響を与えることを示した。この結果は意外なもので、鞭毛運動機構に関する今後の研究にとっても大きな意味を持つものである。またグルタミン酸化酵素と複合体を形成するタンパク質の発見は、この修飾の生化学的機構を探るうえで重要な手がかりとなるであろう。

なお、本論文の主要部分は柳沢春明、八木俊樹、廣野雅文、神谷律との共同研究であるが、論文提出者が主体となっておこなったものであると判断する。したがって、申請者に博士（理学）の学位を授与できると認める。