

論文審査の結果の要旨

論文提出者氏名 山口 真

細胞小器官の一つである繊毛は、環状に並んだ9本の周辺2連微小管と中央に2本の中心対微小管が配置された軸糸構造を持つ。この特殊な構造は、多くのヒト細胞、繊毛虫、藻類、植物の精子、ウニ等多くの生物で共通して保持されている。生物が太古に獲得したと考えられるこれらの繊毛は、脳や臭覚等の機能、心臓を始めとする臓器の配置、細胞の遊泳運動や水流の発生等、様々な生命機能を担う。

繊毛の一種である運動性繊毛は、周期的に繊毛を波打ちさせたり回転させたりする。これらの多様な運動は、軸糸の構成成分の一種であるモータータンパク質・軸糸ダイニンによって駆動されることが知られている。このダイニンは微小管と相互作用し、ATPの加水分解から得られるエネルギーを用いて、巧みに微小管を滑らせる。ダイニン分子による微小管の長軸方向にかかる力発生機構の解明研究は、盛んに行われてきたが、このダイニン分子の運動が、繊毛の運動の駆動にどのように関与しているのかは、いまだ未解決である。

本論文は、繊毛打運動機構の解明を目指し、繊毛を体表に多数持つ単細胞生物・テトラヒメナから生える1本の繊毛打運動の計測と、繊毛を構成する外腕ダイニンの運動計測を、主に、三次元位置検出ユニットを組み込んだ光学顕微システムにより、ナノメートルの精度でイメージングし、新規性の高い結果を2章構成で纏めたものである。

第1章においては、テトラヒメナから単離精製した外腕ダイニンの運動特性について、独自に開発した三次元位置検出顕微鏡を用いて計測した。その結果、ガラス面上に結合した3つのモータードメインを有する外腕ダイニン及びその構成ユニットであるモータードメインが、微小管を長軸方向に滑らせると同時に、微小管を螺旋状に回転させるヨークスクリュウ運動をすることを明らかにした。このような運動特性の報告は、外腕ダイニンにおいて初めてである。さらに、外腕ダイニンは、ATP濃度依

存的なトルク発生特性があること、構成サブユニットごとに異なる運動特性を持つことを明らかにした。

第2章においては、遊泳するテトラヒメナを生きのままマイクロピペットで捕捉して視野内に固定し、1本の繊毛の運動の軌跡を高い時間空間分解能で三次元的に計測できる顕微システムの構築を行った。その結果、繊毛先端は、ある平面上を楕円様の軌道で運動することが初めて明らかになった。さらに、回転の位相に応じて繊毛運動の速度が変化することが定量された。細胞の向きや明視野観察による繊毛の波形の定量結果と合わせて解析したところ、この繊毛打運動は細胞が遊泳する方向に水流を発生させる有効打においては、繊毛は細胞から離れた位置を伸びた波形で速く運動し、逆向きの回復打においては、繊毛は細胞表面に近い位置を屈曲しながら遅く運動することが明らかになった。

以上本論文は、三次元位置検出ユニットを搭載した新たな光学顕微システムを構築することで、従来の観察方法では計測できなかったテトラヒメナの1繊毛の三次元空間での運動を直接的に計測した初めての報告であり、さらに、繊毛打運動の駆動にかかわる軸糸外腕ダイニンの新たな運動特性を明らかにした報告である。これらの研究内容は、繊毛打運動機構を解明するために重要な知見を提示するものとして高く評価できる。さらに、生きのままテトラヒメナの繊毛を三次元的に定量した今回の方法は、他の遊泳する細胞に付随する繊毛や鞭毛の三次元空間での運動の定量にも幅広く応用でき、こうした細胞運動にかかわる研究分野に重要な貢献をなすと期待される。したがって、本審査委員会は博士（学術）の学位を授与するにふさわしいものと認定した。