

論文審査の結果の要旨

氏名 苗加 彰

本論文は、細胞内微小管構造の形成に中心的な役割を担う中心子というオルガネラの形成機構について解析した結果をまとめたものである。全2部から構成され、第1部では中心子形成の鋳型として機能すると考えられていたカートホイールという構造の構成タンパク質を改変した結果について、第2部ではカートホイールとは独立に機能する機構の解析結果について述べている。

中心子は細胞内微小管構造の形成中心として機能する細胞小器官で、9本の3連微小管が回転対称に配置した特徴的な構造をもつ。この9回対称性の形は生物種を超えて共通する普遍的なもので、その機能的意義と構築機構は長い間、生物学の大きな謎の1つとされてきた。

これまでの研究により、この普遍的な9回対称性構造が構築されるには、1) 中心子形成の初期に現れる9回対称性のカートホイール構造が中心子微小管の数を9本に固定すること、2) カートホイールは中心子タンパク質 SAS-6 で構成されており、9個の SAS-6 ダイマーが自己集合して形成されること、3) カートホイールとは独立の機構も存在し、それが微小管の数をおよそ9本に限定すること、などがわかっている。しかし、カートホイールに依存的な機構と依存しない機構がどのように協調して9回対称性を決定しているのか、カートホイールに依存しない機構の実体は何か、といった問題は未解明であった。論文著者はこれらの問題の解明を目指し、中心子研究に最適な研究材料であるクラミドモナスを用いて究を行った。

第1部では、SAS-6のアミノ酸配列を改変し、その会合性の変化が中心子とカートホイールの9回対称性におよぼす影響を調べた結果と、そこから明らかになったカートホイール依存的機構と非依存的機構の関係について述べている。論文著者は SAS-6 ダイマー分子の会合面に位置するアミノ酸に改変を加え、*in vitro* で主に6回対称性の会合体を形成するものなど、28種類の改変 SAS-6 を作製した。この6回対称性に会合する改変 SAS-6 を SAS-6 を欠失するクラミドモナス突然変異株 *blt12* に導入・発現させ、細胞内に形成される中心子とカートホイールを電子顕微鏡で観察した。その結果、正常な9回対称性の中心子に加え、8回対称性の中心子が33%形成され、それらの中心子の内腔には9または8回対称性のカートホイールが形成されていることがわかった。これらの結果はカートホイールが中心子構造の決定に重要な役割をもつことを示すと同時に、カートホイールの構造が SAS-6 の会合性のみによって決定されるのではなく、他の要因の影響を受けることを示している。論文著者は、その要因がカートホイールの周囲にある微小管の集合体からの構造的な影響

であると推察し、Bld10p というカートホイールと微小管の結合を担うタンパク質を改変(短縮化)し、これらの結合を弱める操作を加えた。その結果、改変 SAS-6 の会合性を反映した 6 回対称性のカートホイールが観察され、推察が正しいことがわかった。この結果から、論文著者はカートホイールと微小管集合体はそれぞれ独立に形成と消失を繰り返しており、それらの中から回転対称性と直径などが一致したもののみが安定化することにより、中心子の 9 回対称性が確立するというモデルを提唱している。この研究は、現在一般的に受け入れられている中心子構築モデルが誤りであり、中心子 9 回対称性の確立に働く複層的な機構の存在を明確に示した点で画期的だと言える。

第 2 部では、カートホイール非依存的機構の実体を探った結果を述べている。論文著者は先行研究のデータを詳しく解析することにより、中心子微小管の間の微細構造が観察されない領域に Bld10p が局在する可能性に気づいた。そこで Bld10p の N 末端、分子中央、C 末端をそれぞれ hemagglutinin (HA) タグで標識した融合タンパク質を、Bld10p を欠失する bld10 変異株に導入・発現させ、免疫電子顕微鏡法によって HA の局在を検討した。その結果、いずれの箇所を標識した場合でも HA のシグナルは微小管の中心子内腔面をつなぐように局在することが判明した。また、改良した方法で単離した中心子を電子顕微鏡で観察したところ、ちょうど HA の局在と一致する場所に 2 本の細い繊維状構造が微小管内腔面を架橋しており、Bld10p を短縮化するとこの架橋は短くなることもわかった。これらのことから、Bld10p が微小管内腔面の間を架橋していることが明らかになった。さらに、カートホイールを持たない bld12 変異株において Bld10p を短縮化すると、6 回対称や 7 回対称性の中心子などの微小管数のより少ない中心子が形成されるようになった。このことから、Bld10p が微小管間の距離を一定に保つことによって中心子微小管の数を 9 本前後に限定している可能性が強く示唆された。この結果は、Bld10p がカートホイール非依存的な機構において中心的な役割を担うことを示しており、これまでまったく手がかりがなかったこの機構の理解を大きく進めた点で意義は大きい。

なお本論文の第 1 部は Michel O. Steinmetz の研究グループ (Paul Scherrer Institute、スイス)・Pierre Gönczy の研究グループ (スイス連邦工科大学)・廣野雅文 (法政大学) との共同研究であるが、論文提出者が主体となって研究を遂行したもので、論文提出者の寄与が充分であると判断する。従って、博士 (理学) の学位を授与できると認める。