

論文審査の結果の要旨

論文提出者氏名 宮代 大輔

宮代大輔氏の提出した論文「Chemotactic response with a constant delay-time mechanism in *Ciona* spermatozoa by a high time resolution analysis of flagellar motility (鞭毛運動の高時間分解能解析により明らかになったホヤ精子の一定時間の遅れ機構を持った走化性応答)」に記載された研究では、宮代氏が斬新な鞭毛打波形変化の検出法を考案し、実際に、その手法を走化性反応の解析に応用し、新しい精子の走化性モデルを構築するに到った一連の成果が高く評価された。また、この論文で紹介された解析手法と結論は、今後、精子走化性機構の研究への大きな貢献が期待できると審査委員会は判断した。

精子の走化性は、ひろく脊椎動物、無脊椎動物で共通して見られる現象である。しかし、特殊な感覚器や中枢神経系を持たない精子は、直接、卵の方向を感知して、その方向へ進むことはない。どのように精子が卵へ到達できるのか、その複雑なしくみは、まだ不明な点が多い。この博士論文で紹介されている研究は、卵に向かって精子の遊泳軌跡を方向転換させる巧妙なしくみを探るものである。

精子の走化性遊泳においては、精子の尾部に相当する鞭毛部分の運動波形を、どのようなタイミングで、どのように制御するかが、卵へとたどり着ける効率をあげる上でもっとも重要であると考えられるが、この論文では、新しく考案された二つの解析法を応用して、この鞭毛運動制御のタイミングを正確に検出している。一つは、ある短い観察時間での精子頭部の移動軌跡を経験式に当てはめ、その経験式を使って前後の運動軌跡へ外挿する手法である。精子は卵の放出する誘引化学物質を感知すると、鞭毛打の波形を変化させ、その結果、この予測された移動軌跡からわずかなずれを生じるようになる。この点は、粘性抗力が慣性力に対して圧倒的に大きい系である流体力学的な条件、低レイノルズ数条件下での運動システムの大きな特徴である。精子の運動を 1/600 秒の高速分解能で撮影した動画記録より、その移動軌跡の予測値からはずれる点を、高い精度で検出できることを論文では示している。

もう一つの方法は、鞭毛の波形解析からのアプローチである。鞭毛の波形から読み取った座標データから得た標準化データ（「波形間距離」と宮代氏は名付けている）の経時変化を調べると、運動周期に同期して、同じような値を繰り返す点に着目した賢い方法である。精子の鞭毛波形は、卵の誘引物質を感知した直後、半周期以内（約 1/120 秒後）のずれで、別の

運動パターンへと変化するが、そのタイミングを高い精度で検出できる点、また、ここで検出された運動変化点が、前述のもう一つの手法での手法とまったく同じ結果となること、つまり、独立の二種類の手法で、精子が波形を微妙に変化させる点を、再現性よく、求めることに成功したのである。

海産の原索動物であるホヤの一種、カタユウレイボヤ (*Ciona intestinalis*) の未受精卵は、SAAF という名の硫酸化ステロイドを分泌し、精子は、その濃度勾配を感知することがわかっている。精子細胞内で SAAF の化学的な情報が伝わる経路を考慮すると、この感知後、ある決まった遅れを置いて鞭毛打波形の変化が生じると仮定することができるだろう。上記の二つの波形解析法を使って、この波形変化点が再現性よく検出できたことになる。

ホヤ精子は、波形変化の直前まで、何事もなかったかのように定常的な運動パターンを繰り返して、一定速度で遊泳する。しかし、その遊泳速度には精子細胞 1 つ 1 つのわずかな個性のために、統計的なばらつきがあることを利用すると、SAAF 感知点を見つけられることを宮代氏は示した。このトリックは、出発点と移動時間が同じで、移動速度だけが異なる複数の車両を使い、到着地点の統計的なばらつきから、出発地点がどこになるかを逆算するのと同じである。この巧妙な手法で、誘引物質である SAAF 濃度の二次微分がゼロ（一次微分が極小値）となる地点が、ホヤ精子が走化性物質を感知する地点になると推論した。合わせて鞭毛打波形の変化時も推測でき、論文では、誘引物質感知後、一定の遅延時間、0.18 秒後という値を示している。

なぜ、二次微分=0を検出できるのか、波形変化へそれを結びつける分子機構は何か、次に解決すべき重要な課題である。宮代氏の論文では、二次微分=0地点を、ある SAAF 濃度範囲で有効に検出できる機構の例、また、遅延時間 0.13 秒の波形制御機構が、ホヤ精子の走化性行動の上でどのような利点があるのかも、モデル計算で示すことに成功している。

論文の後半は、流体力学的なアプローチを示している。実験材料はウニの精子であるが、毎秒 6,000 の高速ビデオ画像の記録から、精子の鞭毛周辺の流れを実測する研究を行った。この高い時間分解能で鞭毛の運動波形解析を実施した世界でも初めての試みである。また、精密な画像解析から得られた流れと、低レイノルズ数流体内の運動記述に一般的に使われる Slender-body theory を使った流れ場の理論値との比較も行っている。論文では、精子の走化性反応を攪乱するほどの流れ場が、精子のまわりには生じていない点が、理論的にも、実験的にも示されている。

生命科学の分野の研究でありながら、上のような精密な画像処理、運動解析、流体力学上の理論的な考察を、独自の解決手法と数学的な論理展開によって明解に提示し、精子の走化性行動について一つの確かな解答を与えた点で、審査会では高く評価された。なお、本論文の主要部分は申請者が第一執筆者の論文として既に公表されている。これらの理由により、本審査委員会は、博士（学術）を授与するにふさわしいものと認定する。