

氏名(本籍)	はま さき とし かず 浜崎俊一 (東京都)
学位の種類	博士(理学)
学位記番号	博乙第970号
学位授与年月日	平成6年3月25日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
審査研究科	生物科学研究科
学位論文題目	Control of Ciliary Motility by Calcium and Cyclic AMP in <i>Paramecium</i> (カルシウムとサイクリックAMPによるゾウリムシ繊毛運動の制御)
主査	筑波大学教授 理学博士 内藤 豊
副査	筑波大学教授 理学博士 渡辺 良雄
副査	筑波大学教授 理学博士 岡田 益吉
副査	筑波大学教授 理学博士 柳澤 嘉一郎

論文の要旨

繊毛は広く動物、植物界にわたって見られる運動性細胞小器官である。繊毛は繰り返し打つ(繊毛運動)ことにより、細胞や組織の回りの水を押し水流を作り、またその反作用で細胞、小組織片、時には小個体を遊泳させる。繊毛は外界からの刺激や動物の発生段階などにより、換言すると細胞の生理的状态により運動様式を変化させる。ゾウリムシは原生動物繊毛虫類に属し、細胞表面に生えている約2万本の繊毛により水中を遊泳する。繊毛の運動様式の変化は即遊泳運動の変化として現れるので、ゾウリムシは繊毛運動の制御機構を研究する良い材料となる。

中性表面活性剤、Triton X-100で処理して細胞膜を破壊して殺したゾウリムシ(ゾウリムシ細胞モデル)は、 Mg^{2+} とATPを含む溶液中で繊毛運動が再活性化して前向きに泳ぎ出す。数 μ MCa²⁺を加えると繊毛の有効打の方向が逆転して(繊毛逆転)ゾウリムシは後向きに泳ぐようになる。更にcAMPを加えると有効打の方向が元に戻り、ゾウリムシは再び前向きに泳ぎ出すが、その遊泳速度は Mg^{2+} とATPだけの場合より大きい。

ゾウリムシ細胞モデルの繊毛にATP存在下でCa²⁺をマイクロピペットによる電気泳動法で局所的に投与したところ、繊毛は逆転反応を示したが、反応を引き起こすCa²⁺の濃度閾値は繊毛基部において最も低かった。このことは、繊毛逆転機構のCa²⁺感受性部位が繊毛の基部に局在することを示唆している。

次に繊毛のcAMP受容機構を調べる目的で、単離したゾウリムシ繊毛の軸糸標本に γ -³²P-ATPを加え、繊毛構成蛋白質のリン酸化に対するcAMPとCa²⁺の効果を調べた。cAMP存在下では分子量約65KDと約29KDの蛋白質(以後それぞれp65、p29と呼ぶ)リン酸が顕著に増加した。p29のリン

ン酸は $50\mu\text{M}\text{Ca}^{2+}$ の存在下で阻害された。また、p 29は繊毛軸糸を構成する周辺二重小管の外腕構造を作り、繊毛打に直接関わる蛋白質22 S ダイニンと常に一緒に単離された。

次に p 29のリン酸化とダイニン活性との関係を、微小管の滑り運動再構成系を用いて調べた。この系における微小管の滑りの速さはダイニンの活性と関係している。cAMP 存在下であらかじめチオリン酸化した軸糸標本から単離した22 S ダイニンは、チオリン酸化しないものに比べて約40~50%も速く微小管を滑らせた。この結果は p 29のリン酸化が22 S ダイニンによる微小管滑りの活性を制御していることを強く示唆しており、この蛋白質こそゾウリムシ繊毛のダイニンの調節軽鎖とみなせる。他の原生動物テトラヒメナやクラミドモナスのダイニン腕欠損突然変異株を用いた研究より、外腕を構成する22 S ダイニンが繊毛打の頻度を制御しているという報告がある。

また、あらかじめ cAMP と γ -S-ATP で処理した Triton X-100抽出ゾウリムシモデルは、処理しない対照モデルに比べて、cAMP を加えない Mg^{2+} -ATP 溶液中での前進遊泳測度が速かった、このことから、p29のリン酸化により繊毛軸糸の外腕の活性が調節され、ひるがえって繊毛打の頻度が制御されると測定できる。

審 査 の 要 旨

繊毛運動は生物界に広く分布する細胞運動である。この四半世紀、繊毛の微細構造、構成蛋白分子、刺激に対する反応・運動の精密な解析、コンピュータシミュレーション等の研究が進んできている。著者はゾウリムシの繊毛を材料に、主として生理学的、細胞生物学的手法を用い、繊毛運動の分子レベルでの制御機構について研究を行った。繊毛運動は繰り返し運動で、その頻度は膜電気現象で制御されている。膜が電氣的に過分極されると頻度の上昇が見られる。また、このとき細胞内 cAMP 濃度の増大が見られる。著者は除膜したゾウリムシモデルの繊毛運動に対する cAMP の効果と、繊毛運動に関わる繊毛軸糸構成蛋白の cAMP を介したリン酸化との関係を調べ、p29と仮称される蛋白質のリン酸化が繊毛運動の制御に関わっていることを見出した。さらに、p 29は、繊毛運動の原動力となる微小管の滑りを担うダイニンと呼ばれる蛋白質の一部であり、微小管の滑りを制御することにより、繊毛運動の頻度を調節するという仮説を導くことに成功した。この成果は今後の繊毛運動の分子機構の研究に大きく寄与すると考えられる。

よって、著者は博士（理学）の学位を受けるに十分な資格があるものと認める。