

氏名(本籍)	しお ぎき なな み 汐 崎 七 海 (広島県)		
学位の種類	博 士 (理 学)		
学位記番号	博 甲 第 5362 号		
学位授与年月日	平成 22 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	Studies on ADF/cofilin-like protein Adf73p in Ciliate <i>Tetrahymena thermophila</i> (繊毛虫テトラヒメナの ADF/cofilin 様タンパク質 Adf73p の研究)		
主 査	筑波大学教授	理学博士	沼 田 治
副 査	筑波大学教授 (連携大学院)	理学博士	上 田 太 郎
副 査	筑波大学教授	理学博士	稲 葉 一 男
副 査	筑波大学教授	理学博士	林 純 一

論 文 の 内 容 の 要 旨

ファゴサイトーシスは、外来粒子を細胞内に取り込むために、細胞膜が伸長して食胞を形成する細胞現象である。この機構は原生生物の栄養源獲得から高等生物の免疫系まで、多くの真核生物で重要な役割を担う。食胞形成は、細胞膜直下のアクチン細胞骨格の再編成によって引き起こされると考えられているが、詳細なアクチン制御機構は分かっていない。繊毛虫テトラヒメナの食胞形成は、細胞前方に位置する口部装置という限定した場所で頻繁に起こる。また、テトラヒメナは遺伝子導入法が確立した生物である。これらのことから、テトラヒメナはファゴサイトーシスの分子細胞生物学的な研究の有用なモデル生物である。

細胞内のアクチン細胞骨格の再編成には、多様なアクチン調節タンパク質が働く。テトラヒメナではアクチン東化タンパク質のフィンプリリンや e-EF1A、アクチン重合因子であるプロフィリンの機能は解明されているが、アクチンの切断・脱重合因子の働きについてはまだ明らかになっていない。動物や菌類を用いた解析から、ADF/cofilin はアクチン繊維 (F-アクチン) に結合して切断・脱重合することにより、アクチンのターンオーバーを促進することが知られている。汐崎七海氏はテトラヒメナのゲノムデータベースに ADF/cofilin 様遺伝子 (*ADF73*) が 1 個だけ存在することをみつけ、Adf73p の生化学的活性と細胞内機能を明らかにして、ファゴサイトーシスにおけるテトラヒメナのアクチン調節機構を解明したいと考えた。

テトラヒメナの Adf73p はウサギ骨格筋由来の G-アクチンと F-アクチンに結合し、F-アクチンを切断した。また、アクチンの繊維端をキャップした条件下では F-アクチンを脱重合した。さらに、Adf73p は G-アクチンのヌクレオチド交換反応を促進するという、一般的な ADF/cofilin とは反対の活性を持つことが分かった。しかし、Adf73p のテトラヒメナのアクチン Act1 に対する活性を調べた結果、Adf73p は一般的な ADF/cofilin と同様に、テトラヒメナの Act1 繊維を脱重合した。Adf73p の骨格筋由来のアクチンとテトラヒメナの Act1 に対する活性の違いは、両者のアミノ酸配列の違いに起因すると考えられた。次に Adf73p のテトラヒメナ細胞内での機能について調べた。抗 Adf73p 抗体を作製し、蛍光抗体法により Adf73p の局在を観察した。Adf73p はアクチンと共局在し、口部装置の底から伸長する繊維状や、形成直後の食胞上にドット状に観察された。さらに、テトラヒメナをアクチン重合阻害剤の Latruncullin B で処理すると、Adf73p の局在

はアクチンとともに拡散し、食胞形成は阻害された。そこで、食胞形成における Adf73p のアクチンへの機能について調べるため、Adf73p ノックアウト株を作製した。Adf73p ノックアウト株は非常にゆっくりではあるが、増殖した。また、食胞の形成が阻害された。このとき、野生型で観察されたアクチン構造体の局在は阻害され、代わりにアクチンの異常な凝集が細胞質中に観察された。これは、Adf73p による適切なアクチン構造体の分解が起こらず、F-アクチンが細胞内に異常に凝集したためと考えられた。さらに、Adf73p 過剰発現株でも正常なアクチン構造体の局在は妨げられ、食胞形成は抑制された。これは、Adf73p による F-アクチンの切断、脱重合が過剰に起きたためと推察された。これらのことから、Adf73p は細胞内で一般的な ADF/cofilin 様活性をもって食胞形成に働くアクチン構造体の形成、あるいは維持に関与することが示唆された。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究はテトラヒメナの F-アクチン切断・脱重合因子として、Adf73p の生化学的活性と細胞内機能を初めて解明したものである。Adf73p は、F-アクチンを切断・脱重合するという、一般的な ADF/cofilin 様の活性をもつことが分かった。さらに、骨格筋由来のアクチンに対しては G-アクチンのヌクレオチド交換反応を促進するという独特の活性を持つものの、テトラヒメナの Act1 に対しては一般的な ADF/cofilin 様の活性を持つことが示唆された。テトラヒメナ細胞内では、Adf73p は一般的な ADF/cofilin 様の活性をもってアクチン構造体を制御すると考えられた。さらに、このアクチン細胞骨格の再編成が食胞形成を引き起こすことが示された。本研究はテトラヒメナのファゴサイトーシスにおけるアクチン細胞骨格の制御機構を初めて明らかにしたものである。したがって、本研究はファゴサイトーシスにおけるアクチン制御機構の理解に多大な貢献をするもので、学問的価値が高いと判断される。

よって、著者は博士（理学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。