

氏名(本籍)	おおにしかずお夫(東京都)
学位の種類	理学博士
学位記番号	博甲第165号
学位授与年月日	昭和58年3月25日
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当
審査研究科	生物科学研究科 生物物理化学専攻
学位論文題目	Studies on Ca <sup>2+</sup> -Binding Proteins in Cilium and Its Roles in Ca <sup>2+</sup> -Regulation of Ciliary Movement of <i>Tetrahymena thermophila</i> (テトラヒメナ繊毛内のCa <sup>2+</sup> 結合性蛋白質と繊毛運動のCa <sup>2+</sup> 制御に関する研究)
主査	筑波大学教授 理学博士 渡邊良雄
副査	筑波大学教授 理学博士 柳澤嘉一郎
副査	筑波大学教授 理学博士 黒川治男
副査	筑波大学助教授 理学博士 平林民雄

### 論 文 の 要 旨

細胞が行う様々な生命現象にCa<sup>2+</sup>が重要な制御的役割を演じていることが従来知られており、その効果は特殊なCa<sup>2+</sup>結合性蛋白因子によって仲介されていることが最近になって明らかになった。中でもカルモデュリン(CaM)は真核生物に遍在し、Ca<sup>2+</sup>依存的に種々の酵素の活性化や細胞運動系(アクトミオシン系や微小管系など)の調節に関与することで注目を集めている。

著者は、微小管系の細胞運動の代表として繊毛・鞭毛運動をとりあげ、そのCa<sup>2+</sup>制御(繊毛では逆転反応が起る)の分子機構を明らかにすることを目的に、Ca<sup>2+</sup>結合性蛋白因子の解析を中心に研究を行った。以下に得られた新知見の主たるものを列挙する。

- (1) 繊毛・鞭毛内にCaMが存在することの直接証明をテトラヒラメ繊毛を用いて世界で初めて行った。
- (2) 繊毛内では、CaMは膜分画及び周辺微小管分画に局在することを生化学的に示し、さらにCaMとCa<sup>2+</sup>依存的に結合する蛋白質が周辺微小管分画に存在することをつきとめた。
- (3) さらにCaMの特異抗体を用いた免疫電顕法で、CaMは周辺微小管相互をつなぐ“interdoublet links”に結合することを示した。
- (4) このことから、繊毛内に流入したCa<sup>2+</sup>はCaMと複合体を形成し、さらにinterdoublet linksの弾性を変化させることによって繊毛打波形の変化をもたらすのではないかという新しい考えを提示

した。

- (5) 一方、繊毛運動モデルに対するCaM阻害剤投与が逆転反応に影響を及ぼさないことなどから、Ca<sup>2+</sup>制御機構は更に複雑でCaM以外のCa<sup>2+</sup>結合性蛋白質因子も機構に介在する可能性が考えられた。
- (6) 上記の予想通り、繊毛内にCaMとは異なる第二のCa<sup>2+</sup>結合性蛋白質を発見し、分離精製にも成功し、これをTCBP-10と名付けた。
- (7) TCBP-10は分子量10,000、等電点pH 4.5で、抗原性、アミノ酸組成、臭化シアンや蛋白分解酵素によるペプチドパターンなどからCaMとは明らかに異なる分子で、<sup>45</sup>Ca<sup>2+</sup>の平衡透析から、この蛋白質のCa<sup>2+</sup>結合値は分子当り1で、解離定数は27 μMであることが判った。
- (8) TCBP-10はCaMと共に繊毛運動のCa<sup>2+</sup>制御に重要な役割を演ずる可能性を示唆した。

## 審 査 の 要 旨

アクチオシン系や微小管系に代表される細胞運動系は細胞が行う多様な生命活動に重要な役割を演ずることが最近になって示唆され、その機構解析が分子生物学の主要な課題になってきた。著者は微小管系の代表例である繊毛運動を取上げ、そのCa<sup>2+</sup>制御機構を解析し、上記の成果を得た。特に、繊毛内にCaMが存在することを直接証明し、その局在部がinterdoublet linksであることを示した点は重要で、これによって繊毛逆転に関する新しい考え方(仮説)を提唱した。この仮説は、繊毛運動の第1人者であるGibbons(1982)が行った生理学的実験結果とよく一致し、評価されている。

また、著者は更に研究を進めているうちに、運動制御機構はより複雑であることに気付き、CaMとは別のTCBP-10と称するCa<sup>2+</sup>結合性蛋白質の存在をつきとめ、単離に成功し、その性質を明らかにした。このことは、繊毛・鞭毛に2種のCa<sup>2+</sup>結合性蛋白質が存在して運動のCa<sup>2+</sup>制御に重要な役割を果す可能性を示したはじめての報告であり、大きな注目を浴びている。また、TCBP-10の物理化学的性質は、これまで高等動物にしか発見されていなかった“S-100”や“ビタミンD-依存性Ca<sup>2+</sup>結合性蛋白質”の様なCaMファミリーに属するようなCa<sup>2+</sup>結合性蛋白質のものとよく似ており、今回原生動物のテトラヒメナからTCBP-10が発見されたことは、この系統の蛋白質の分子進化を考える上で重要な一石を投じたものといえよう。

これらの研究成果は、細胞運動制御の分子機構解析に新しい発展をもたらしたばかりでなく、今後のこの分野の発展にも大きな貢献をもたらす基礎を提供したものとして高く評価されている。

よって、著者は理学博士の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。