

氏名(本籍)	すぎの 杉 野 一 行 (栃木県)
学位の種類	理学博士
学位記番号	博甲第615号
学位授与年月日	平成元年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
学位論文題目	The mechanism of 3-dimensional ciliary movement (繊毛の3次元運動のメカニズムに関する研究)
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 石坂 昭三
副査	筑波大学教授 理学博士 渋谷 達明
副査	筑波大学教授 理学博士 堀 輝三

論 文 の 要 旨

生体における化学エネルギー→運動エネルギー変換系として、ダイニン-チューブリン系が筋肉のアクチン-ミオシン系と並んでよく知られている。真核生物の繊毛や鞭毛がこの系に依存している運動系の代表である。繊毛や鞭毛では、チューブリンよりなる11本の微小管が、いわゆる9+2と呼ばれる特殊な配列構造をとっており、微小管と、それに規則的に付着している、ダイニンよりなる棒状構造体、腕との間の相互反応により、複雑な運動が生じるしくみになっている。一般に繊毛の運動は、繊毛がほぼ真っ直ぐのまま基部付近にのみ曲りが生じ、地上に立てた棒が倒れるように動く“有効打”と、引き続く、基部の曲りが繊毛の先端方向へ伝わって行きながら、有効打の始まりの形と位置まで戻る“回復打”の2つの相からなる。繊毛は、有効打の時には細胞膜と殆ど直角な面に沿って動き、回復打の時には半円錐面状の曲面に沿って動く。すなわち、繊毛は3次元的に動くのである。また繊毛は、外部からの刺激に起因する細胞の状態の変化に反応して、繊毛打頻度、有効打の方向、曲りの角速度などを変化させる。このような繊毛反応により、細胞体の遊泳速度や遊泳方向が変化し、細胞が有用な刺激源に近付いたり、有害は刺激源から遠ざかったりすることとなる。本研究では、原生動物細胞を材料とし、コンピュータによる繊毛運動のシミュレーションと、膜電位固定法により細胞のイオンチャネルの活性を制御しつつ、繊毛運動を高速度映画、高速度ビデオを用いて記録解析を行った。この結果、繊毛運動をダイニン、チューブリン等の分子活性のレベルで定量的に記載することが可能となり、繊毛の運動とその制御の機構の一部が明らかとなった。

1. 繊毛運動とダイニンチューブリン架橋パターン：これまで多くの研究者により得られた繊毛運動に関する形態学的、生理学的、生化学的、物理学的知見に違反しないコンピュータモデルを作成した。このモデルは、外液の粘性を決めておけば、9本の周辺微小管の各隣合った微小管間のダイニンチューブリン活性化による能動的な滑べりの部域（ダイニンチューブリン架橋パターン）を入力すると、繊毛の形が一意的に決るものである。ある架橋パターンを入力したときに得られる繊毛の形が、実際の繊毛が示す形と等しければ、そのパターンを現実のそれと見なすことが出来る。こうした得られたパターンより、以下に示す幾つかの、繊毛の運動機構を知る上に重要な、注目すべき点が明らかになった。それは、(1) 能動的な滑べりは繊毛基部より発生して先端へ向かって伝わっていく（縦方向の伝播）。(2) 縦方向の伝播速度は繊毛打の一周期を通してほぼ一定している。(3) 繊毛を見下ろした場合、繊毛基部における滑べり領域の発生は繊毛軸を中心に反時計回りに回る（横方向の伝播）。(4) 横方向の伝播速度は繊毛打周期の中のどの時期かにより異なる。具体的には、有効打と回復打の開始直後には速く伝わり、有効打の後半から回復打の直前までの間は殆ど伝播はない。(5) 外液の粘性が変化しても、滑べりの領域には殆ど変化がない。
2. 細胞の興奮状態変化に伴う繊毛打パラメータの変化：膜電位を静止電位レベルより -13mV ～ $+50\text{mV}$ 変化させたレベルに数百 msec 固定した際の繊毛打パラメータの変化を調べた。この結果、繊毛の運動機構を知る上に重要な次の各点が明らかとなった。(1) 横方向の伝播速度は、有効打と回復打の変わり目で大きくなる。(2) 横方向の伝播速度は、膜の脱分極時にはその極性を保ったまま、一様に大きくなる。これは脱分極時の繊毛打頻度の上昇をよく説明する。(3) 回復打時の平均滑べり速度は、過分極、脱分極を通してほぼ一定で、過分極時は有効打時のそれよりも大きい。脱分極時には有効打の方が遥かに速くなる。(4) 繊毛打軸の傾きは、過分極、脱分極を通してほぼ一定である。(5) 繊毛打軸と方向は過分極時はほぼ一定だが、脱分極が大きくなるに連れて反時計回りに向きを変える。(6) 繊毛打の形状は、過分極時には非常に大きな空間的極性を持っているが、脱分極の際は分極の度合が増すほど円錐に近くなっていく。

審 査 の 要 旨

本論文は次の2点から高く評価される。

- (1) 本研究で制作された繊毛運動のコンピュータモデルは、真の繊毛がその運動時に示す形態変化に対応する繊毛内部の分子レベルでの変化を予測することが出来る。この予測の正当性は、この繊毛モデルの外液の粘性を40倍にしたと想定した時の繊毛打の形態が、真の繊毛が、その外液の粘性を実験的に40倍にした時に示す形態と殆ど完全に一致している事から証明される。現時点では、繊毛運動に伴う繊毛内化学反応（微小管間の能動的な滑べり）の局在性を調べる手段は殆ど無いと云ってよい。従って、このコンピュータモデルを用いて得られた、実際の繊毛の3次元的運動に対応させた、繊毛内に局在する能動的な滑べりのパターンの研究は、繊毛運動の分子機構の解明に大

きく寄与するものである。

(2) 絨毛は極めて微小（太さ $0.2\mu\text{m}$ ，長さ $10\mu\text{m}$ ）で，しかもかなりの高頻度（ $10\sim 50\text{Hz}$ ）で繰り返し打っている。従って，絨毛打に伴う絨毛形態の時間変化を正確に記録することはかなり至難の業である。本研究では，顕微鏡の光学系の改良から始まって，高速度映画又は高速度ビデオに記録する技術，更に1フレーム毎に絨毛の形を解析する上でのコンピューターの導入等，数々のユニークな技術を開発した。こうして得られた信頼性の高いデータによる解析は，絨毛運動の分子機構の解明に必須である。

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。