The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Interactions of ATP with the Dynein-tubulin System of Cilia from Tetrahymena pyriformis
Author(s)	Takahashi, Masami
Citation	大阪大学, 1979, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/24446
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【9】

氏名・(本籍)	高橋正身（たかはしまさみ）
学位の種類	理学博士
学位記番号	第 4531 号
学位授与の日付	昭和54年3月24日
学位授与の要件	理学研究科 生理学専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**テトラヒメナ繊毛のダイニン-チューブリン系とATPとの相互作用**
論文審査委員	(主査) 教授 殿村 雄治 教授 佐藤 了　教授 越田 豊

論文内容の要旨

(1) テトラヒメナ繊毛から精製した30sダイニンを周辺小管に加えると，AおよびB両小管にほぼ等しい親和性で結合し，腕を形成した。AおよびB小管に結合した腕の長さはともに22～24nmで腕の間隔はともに約23nmであった。また両者はともに周辺小管に対し48°～55°の角度で繊毛の基部に傾いて結合していた。ATPを加えると，B小管に結合していた腕のみが解離し，ATP加水分解後に再びB小管に結合した。それに対し，A小管に結合している腕はATPを加えても解離しなかった。幾本かが並んでいる周辺小管間の距離はATPを加えると14nmから17nmに増大し，ATP分解後に15nmに減少した。トリプシン処理をしたaxonemeにATPを加えると，腕は可溶化され，ATP分解後にB小管に結合した。またATP添加によりばらばらになった周辺小管はATP分解後集って大きな集合体を形成した。トリプシン処理したaxonemeのATPaseは1μMと13μMにKmを示した。他方濁度変化から求めたATPによるaxonemeからの腕の解離のATP濃度依存性は，見かけの解離定数1μMの解離曲線と一致した。

(2) テトラヒメナのaxonemeから0.5MKClでダイニンを抽出した。SDS-電気泳動で調べると，抽出された蛋白質の約50%が分子量約35万であり，axonemeの分子量約35万の蛋白質の90%が抽出されていた。このダイニンATPaseに残さの微小管分画を加えると活性が1.6～1.8倍に増加した。またダイニンATPaseは1molあたり約1molのリン酸放出のinitial burstを示した。

(3) 10種のATPアナログ（2′-dATP, 3′-dATP, εATP, FTP, 8-NH(CH_3)-ATP, 8, 3′-s-cyclo ATP, 8-Br-ATP, 8-SCH_3-ATP, 8-OCH_3-ATP, AMPPNP）のうち2′-dATP, 3′-dATPのみがテトラヒメナの30sダイニンによって加水分解をうけ，B小管からのダイニンの腕の解離，

周辺小管間の能動的すべり運動，axonemeの屈曲運動をひき起した。またこの二種のATPアナログのみが，テトラヒメナのTritonモデルの繊毛の方向の逆転をひき起した。

これらの結果に基づいて，周辺小管間の能動的なすべり運動の分子機構を考察した。

論文の審査結果の要旨

有核細胞の運動にはミオシン－アクチン系によるものとダイニン－チューブリン系によるものの2つがある。ミオシン－アクチン系の運動の機構の研究は最近筋収縮を中心として大いに進展したが，ダイニン－チューブリン系のそれはあまり進んでいなかった。しかし，近年Gibbonsらは主としてウニの精子の鞭毛を用いて，チューブリンより成る周辺微小管からのarmを形成しているダイニンがATPase活性を持つこと，周辺微小管相互のすべり運動によって鞭毛の運動が起こることを明らかにし，ダイニン－チューブリン系とミオシン－アクチン系との類似性が注目されるようになった。

高橋君はテトラヒメナの繊毛からA-およびB-小管より成る周辺微小管を分離し，それにダイニンを加えるとダイニンはA-，B-両小管と結合しarmを形成すること，小管上でarmが規則正しく配列し，しかもすべて繊毛の基部の方向に傾いていることを示した。さらに，ATPを加えるとB-小管に結合したarmのみが完全に解離することを観察した。解離の程度のATP濃度依存性がダイニン-ATPase活性のそれに等しいことから，高橋君はダイニン-ATPaseの活性中心にATPが結合することによって解離が起こると推定した。

高橋君はさらにダイニンのATPaseの反応機構を詳細に調べ，ミオシン-ATPaseの場合と同様，酸に不安定なダイニン－リン酸結合物が中間体となっていること，その分解がチューブリンで促進されることを示した。高橋君の得たこれらの結果はダイニン－チューブリン系のarm，A-小管およびB－小管がそれぞれミオシン－アクチン系におけるミオシンより成る太いフィラメントの突起とフィラメントのcore，およびアクチンより成る細いフィラメントと相同であることを強く示唆するものである。

高橋君のこれらの結果はダイニン－チューブリン系の反応機構がミオシン－アクチン系のそれと相同であることを初めて分子レベルで示したものであり，この方面の今後の研究のための極めて重要な基礎を築いたものと言える。従って，同君の業績は理学博士の学位論文として十分価値あるものと認められる。