The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	ゾウリムシ繊毛運動におけるサイクリックヌクレオチドの役割
Author(s)	和泉, 明美
Citation	大阪大学, 1987, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35386
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【47】

氏名・(本籍)	和泉明美（いずみあけみ）
学位の種類	工学博士
学位記番号	第 7753 号
学位授与の日付	昭和62年3月26日
学位授与の要件	基礎工学研究科物理系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**ゾウリムシ繊毛運動におけるサイクリックヌクレオチドの役割**
論文審査委員	(主査) 教授 葛西 道生 (副査) 教授 鈴木 良次　教授 有働 正夫　教授 永井 玲子

論文内容の要旨

ゾウリムシ（Paramecium caudatum）のTriton－extracted modelはCaイオン濃度が10^{-6}Mより低いと前進遊泳し，高いと繊毛打の逆転をおこして後退遊泳をする。Caイオンによる繊毛打の逆転にカルモデュリンが係わっているかどうかを調べるために，カルモデュリンの阻害剤，Trifluoperazine（ＴＦＰ）をTriton－extracted modelに試したところ，ＴＦＰは繊毛打の逆転を阻害し，高いCaイオン濃度のもとでもmodelは前進遊泳した。このＴＦＰの効果は，adenosine 3′，5′－cyclic monophosphate（ｃＡＭＰ）によって促進され，ｃＡＭＰ依存性のタンパク質のリン酸化酵素の阻害剤（protein kinase inhibitor，ＰＫＩ）によって阻害された。このことからＴＦＰはｃＡＭＰ依存性のタンパク質のリン酸化の量を増加させることによって，Caイオンによる後退遊泳を阻害して前進遊泳を引きおこすと考えられる。またカルモデュリンは，このリン酸化の量を減少させて後退遊泳を引きおこすことが分る。

ゾウリムシのTriton－extracted modelをさらにショ糖とMgイオンのキレート剤，ethylenediamine tetraacetic acid（ＥＤＴＡ）で処理すると（sucrose－treated model），Caイオンなしの条件下でも，前進遊泳ができなくなり，細胞の回転だけがおこった。このとき繊毛は，有効打，回復打からなる正常の運動を示さず，細胞の前後に同じ程度の角度で打った。ｃＡＭＰを加えると，繊毛は正常な繊毛打を示すようになり，繊毛打の角度も繊毛打の１サイクルの間中，細胞の後部に向いて打った。その結果modelは前進遊泳できるようになる。このｃＡＭＰの効果は，ＰＫＩによって阻害された。このことは，正常な繊毛打による前進遊泳がｃＡＭＰ依存性のタンパク質のリン酸化によって引きおこされることを示している。

次にTriton－extracted modelのショ糖／ＥＤＴＡ抽出液から，前進遊泳を引きおこす物質の精製を試みた。硫安分画法，ゲルろ過法，イオン交換クロマトグラフィーによる精製の結果，分子量がＳＤＳ－ポリアクリルアミド電気泳動法で39,000ダルトン，ゲルろ過法で120,000ダルトンと推定されるタンパク質を得た。従って，活性をもつ状態は，３つのサブユニットの集まりである。このタンパク質を加えると，sucrose－treated modelの前進遊泳を引きおこすだけでなく，Caイオンによる後退遊泳のＴＦＰによる阻害効果を促進した。すなわちｃＡＭＰを加えた場合と同じ効果を示す。さらにタンパク質の効果もＰＫＩによって阻害された。このタンパク質はｃＡＭＰ合成酵素かまたはその活性因子であると思われる。

これらすべての結果より，ｃＡＭＰ依存性のタンパク質のリン酸化の量が繊毛打の方向を直接決定すると示唆される。

論文の審査結果の要旨

繊毛は生物のもつ運動器管の一種である。ゾウリムシなどでは，その運動様式が多様に変化するが，その分子的機構については，ほとんど分っていない現状である。本研究では，ゾウリムシの細胞膜を界面活性剤，トリトンで破壊したモデルを作製し，これに運動のエネルギー源となるＡＴＰと共に，種々の薬物を加え，繊毛運動の様式の変化を調べた。その結果，Caイオンによってひきおこされる繊毛打の逆転現象は，カルモデュリンと呼ばれる蛋白が関与していること，一方，サイクリックヌクレオチド依存的に蛋白質をリン酸化させると，Caによる繊毛打逆転が阻害されるが，このリン酸化をCa－カルモデュリンは分解する方向に働いて，繊毛打逆転をひきおこすことを明らかにした。

また，このモデルに浸透圧ショックを加える方法で，さらにモデルの破壊を進めると，繊毛が有効に水をかく形態をつくれず，細胞体が泳げず，同じ場所にとどまることを見いだした。これに浸透圧ショック時に遊離した分子量12万の蛋白質を加えると再び繊毛有効打および泳ぎが回復することを見いだした。この蛋白質も，サイクリックヌクレオチド依存性の蛋白質リン酸化反応を進めることと関係している可能性を示した。

これらの結果は，繊毛運動様式の制御が蛋白質のリン酸化を介して行われていることを示しており，その制御機構の分子的メカニズム解明の重要な知見となるので，学位論文として価値あるものと認める。