

Title	織毛運動における協調性の形成機構
Author(s)	岡本, 賢一
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39804
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	おが もと けん いち 岡 本 賢 一
博士の専攻分野の名称	博 士 (工 学)
学位記番号	第 1 2 0 8 6 号
学位授与年月日	平成 7 年 9 月 2 8 日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 基礎工学研究科 物理系専攻
学位論文名	繊毛運動における協調性の形成機構
論文審査委員	(主査) 教授 葛西 道生 (副査) 教授 佐藤 俊輔 教授 柳田 敏雄 助教授 中岡 保夫

論文内容の要旨

ゾウリムシなどの繊毛虫の遊泳運動において、多数の繊毛が協調して動きいわゆる繊毛波を形成する。この繊毛波は有効な水流を発生させるために重要であり、繊毛間の協調性を持った相互作用によって形成されると考えられている。どのような繊毛間の相互作用によって繊毛波が形成されるのか調べるため、界面活性剤で処理したゾウリムシ細胞からその表層構造のみを取り出し、ガラスに張りつけ平面化した繊毛の表層シートを作成した。その表層シートにATPを含む溶液を還流すると繊毛運動が再活性化した。ATPのみでは生細胞において観察されるような繊毛波は観察されなかったが、さらにcAMPまたはcGMPを加えておくとそれぞれのサイクリックヌクレオチドに特徴的な繊毛波が可逆的に形成された。cGMPによって形成された繊毛波は生細胞において観察されるものに対応していた。

さらにこれら再構成された波を比較するため、その繊毛運動のビデオ画像から自己相関係数を測定する方法により繊毛波の安定性を調べた。その結果、cGMP存在下でもっとも繊毛波は安定していることが分かった。

次に繊毛にマイクロビーズをつけ、そのビーズの動きを解析することによって、繊毛波を構成する個々の繊毛の運動を解析した。その結果cGMPの存在下で有効打と回復打の回転速度の違いが明確になった。また回復打の時期に繊毛が細胞表層と平行になるまで傾いて動くため、隣り合った繊毛に衝突することが示された。これが機械的な繊毛間の相互作用を引き起こすと考えられる。

一方隣り合った繊毛を取り除いた表層構造上の単独の繊毛の運動を解析すると、cGMPの存在下で単独の繊毛はその回転運動の間に一時停止する時期が生ずることが分かった。この一時停止は回復打の開始時期に観察された。しかしながら隣り合った繊毛が存在する場合、cGMPの存在下においてもその停止する状態は観察されなかった。これは停止した繊毛が隣り合った繊毛との機械的な相互作用によって容易に動き始めることを示している。このような機械的な相互作用が一定の位相差を保つ繊毛波を形成すると考えられる。

次に繊毛運動のcGMPに対する感受性を高くする因子を検索した。細胞から抽出し、部分的に精製したタンパク成分を加えると、表層シート上で繊毛波の形成に必要なcGMPの感受性上昇が見られた。また表層シート上の繊毛をcGMP依存的に不可逆的にチオリン酸化するとcGMPを除いた後でも繊毛波が形成されていた。これらの結果から何らかの

纖毛タンパクがcGMP依存的にリン酸化されると、各々の纖毛運動の非対称性が増大し、纖毛間の相互作用が起こることにより纖毛波形成にいたることが示された。

論文審査の結果の要旨

本論文は、隣り合った個々の纖毛がどのような協調性を保ちながら運動することにより纖毛集団での纖毛波が形成されるのかを解析したものであり、結果の要点は以下の通りである。

- (1) 界面活性剤で処理をしたゾウリムシ細胞から、纖毛を持った表皮膜部分をガラス表面に展開して張り付けた”表層シート”を作成した。このような表層シートでは顕微鏡観察の光学条件が改善されるため、纖毛運動の解析精度を上げることが可能になった。
- (2) 表層シートにATPを含む溶液を還流すると纖毛運動が再活性化するが、ATPのみでは纖毛波が形成されなかった。しかし、ATPと共にcAMPまたはcGMPを加えるとそれぞれ様式の異なる纖毛波が形成された。このうちcGMPで形成された纖毛波が生細胞のパターンと一致することが示された。
- (3) 再活性化した纖毛運動の高速度ビデオ画像から相関関数を求めることにより、纖毛波の安定性を定量的に評価した。この測定からもcGMP存在下で形成された纖毛波が生細胞での纖毛波の安定性と一致することが明らかにされた。
- (4) 纖毛集団中の一本の纖毛先端部にマイクロビーズを付着させておき、纖毛波が形成された時とされない時とでビーズの運動を比較した。その結果纖毛波が形成されるに伴い、有効打はシート面から立ち上がって速く打ち、回復打はシート面と平行になるまで倒れた状態でゆっくり打つような変化をしており、個々の纖毛の運動が時間的、空間的に非対象性を増大させた。
- (5) 表層シート上で、隣り合った纖毛のない単独の纖毛運動を解析すると、cGMPを加えることにより運動の非対象性が増大するのみでなく、回復打の開始初期に一時運動を停止することが見つけられた。纖毛集団ではこのような停止が見られないことから、纖毛の一時停止は隣り合った纖毛間相互作用の待ち時間となり、隣り合った纖毛運動サイクルの位相差を生じると予想された。
- (6) 生化学的解析から、cGMPによる纖毛運動変化は纖毛内に含まれる何らかの蛋白質のcGMPに依存性リン酸化と関連していることが示された。
- (7) 表層シートのcGMPに対する感受性を高くする蛋白質因子を部分的に精製した。この因子はcGMP依存性の蛋白質磷酸化酵素である可能性が高い。

以上のように、本研究は纖毛波形成に伴う個々の纖毛運動の変化を明らかにし、さらにこの変化が纖毛蛋白の磷酸化と関わる可能性を指摘したものである。これらの知見は、生物の運動器官である纖毛の運動機構に関して、極めて重要で新しい知見をもたらした。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。