

平成 26 年 7 月 7 日

報道機関各位

東京工業大学
東京大学大学院理学系研究科

鞭毛モーターの規則的配列機構を解明

—鞭毛を動かす“エンジン”が正しい間隔で並ぶ仕組み発見—

【要点】

- 真核生物の鞭毛・纖毛を駆動する分子モーター・ダイニンが、微小管上に一列に一定間隔で並ぶ仕組みを解明
- ダイニンを微小管に結合させるタンパク質複合体「ドッキング複合体」が一定間隔の土台を作ることを発見

【概要】

東京大学大学院理学系研究科の大和幹人大学院生、神谷律名譽教授（学習院大学理学部客員教授）、東京工業大学資源化学研究所の若林憲一准教授らの研究グループは、名古屋大学エコトピア科学研究所、東京工業大学生命理工学研究科、コネチカット大学ヘルスセンター、マサチューセッツ大学メディカルスクールとの共同研究により、真核生物の鞭毛（用語 1）を動かすエンジンであるタンパク質「ダイニン」（用語 2）が、鞭毛を構成するタンパク質纖維「微小管」（用語 3）上に規則的に並ぶ仕組みを解明した。

「外腕ダイニン」の根元に存在する「ドッキング複合体」（用語 4）の性質に着目し、それ自体が約 24 nm の長さで、微小管上の決まった位置に数珠つなぎで結合することを突き止めた。ドッキング複合体が作った 24 nm 周期の上に外腕ダイニンが乗ることで、ダイニンの 24 nm 周期の結合ができる。鞭毛の構築メカニズムの理解だけでなく、外腕ダイニンの欠陥が主因と考えられているヒト疾患「原発性纖毛不動症候群」の研究に役立つと期待される。

この成果は米国科学アカデミー紀要(PNAS)オンライン版に 6 月 16 日に掲載された。

●背景

真核生物の鞭毛・纖毛は、細胞から生えた毛のような細胞小器官である。その内部構造は原生生物からヒトまで共通の「9+2」構造を持つ（図1）。これは9組の2連微小管が2本の中心微小管を取り囲む円筒状構造であり、2連微小管の上にはモータータンパク質「ダイニン」が規則正しく並んでいる。

このダイニンが2連微小管間に滑り運動を起こすことで、鞭毛は波打ち運動を行う。この運動は、精子や微生物などの運動、脳室での脳脊髄液の循環、気管上皮での異物の排出、輸卵管での卵子の輸送など、さまざまな生物の多様な器官で重要な役割を担っている。

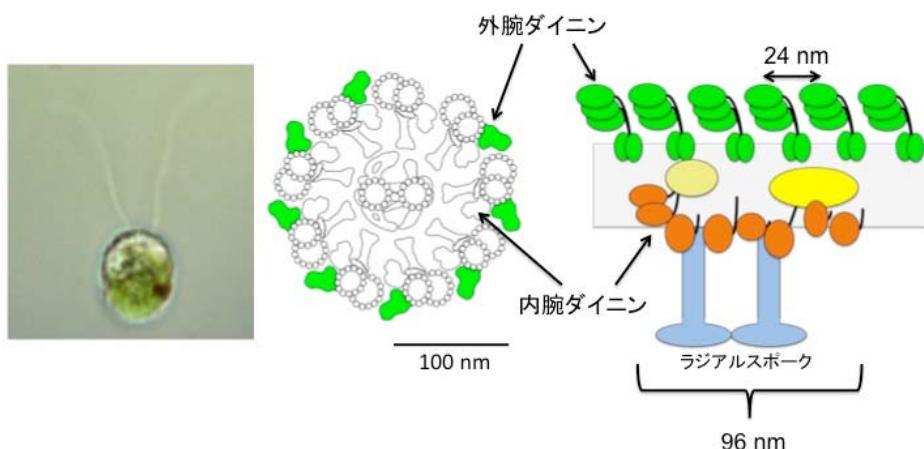


図1 (左) クラミドモナス細胞。2本の鞭毛を持ち、平泳ぎのように動かして水中を泳ぐ。鞭毛の長さは約 $12 \mu\text{m}$ 。(中) 鞭毛断面の模式図。9組の2連微小管が2本の微小管を囲む「9+2構造」をもつ。2連微小管の上のモータータンパク質ダイニンが向かい側の2連微小管に対して滑り運動をすることで鞭毛は屈曲する。(右) 2連微小管をダイニンの側から見た模式図。外腕ダイニンは24 nm周期で1列に配列している。他の構造は96 nm周期で配列している。

鞭毛が根元から先端に向かって規則正しく波を伝播するには、ダイニンが周期的に結合していることが重要と考えられる。ダイニンには大きく分けて外側の「外腕ダイニン」、内側の「内腕ダイニン」の2種類があり、外腕は24 nm周期、内腕は96 nm周期でそれぞれ決まった場所に規則的に結合している（図1）。しかし、ダイニンがなぜ微小管に周期的に結合できるのか、そのメカニズムは

分かつていなかった。

ダイニンのうちもっとも強い力を出すのは外腕ダイニンである。近年の研究から、ヒトの体に生えるさまざまな鞭毛が動かない、生えないことによる疾患「原発性不動纖毛症候群」（水頭症、不妊症、呼吸器疾患などを引き起こす）の原因の多くが外腕ダイニンの異常であることが分かっている。同研究グループは、外腕ダイニンがどうして決まった位置に規則的に並ぶことができるのかに着目して研究を開始した。

鞭毛を動かすダイニンについての知見の多くは、単細胞緑藻クラミドモナス（図1）の突然変異株を使った研究によって得られてきた。同研究グループは先行研究によってクラミドモナス鞭毛から発見された「ドッキング複合体」の機能に着目した。ドッキング複合体は3つのタンパク質からなる複合体である。

ドッキング複合体を欠失した突然変異株の鞭毛には、外腕ダイニンの遺伝子に異常がないにも関わらず、外腕ダイニンが存在しないことが知られていた。そこで、ドッキング複合体が、外腕ダイニンの微小管結合に介在するだけでなく、24 nm の周期性にも寄与している可能性を検討した。

●研究成果

ドッキング複合体を大量精製し、回転蒸着電子顕微鏡法（用語5）によって分子形状を観察したところ、長さ 24 nm の楕円体状の構造をもつことがわかった。また、微小管とドッキング複合体を混合して化学架橋法（用語6）を行ったところ、ドッキング複合体同士が微小管上で結合していた。

ドッキング複合体をクラミドモナスの「外腕ダイニンおよびドッキング複合体欠失株」の鞭毛に混合したところ、正しい場所に、24 nm に1つの割合で結合した。この結合には強い正の協同性（ドッキング複合体が微小管に結合すると、そのすぐ横に別のドッキング複合体が招き寄せられる）があることが、詳細な結合解析により判明した。

これらの結果を合わせて、ドッキング複合体がいわば外腕ダイニンを並べるための「分子定規」のような役割を持っている可能性があることがわかった。すなわち、「長さ 24 nm のドッキング複合体が、微小管上の決まった位置に、間を空けずに数珠つなぎに結合する」ことが 24 nm 周期の基礎となり、ここに外腕ダイニンが結合することで外腕ダイニンが正しく並ぶことができるという構築モデルを提唱した。この研究によりダイニンの周期的微小管結合の分子メカニズムの一端が初めて明らかになった。

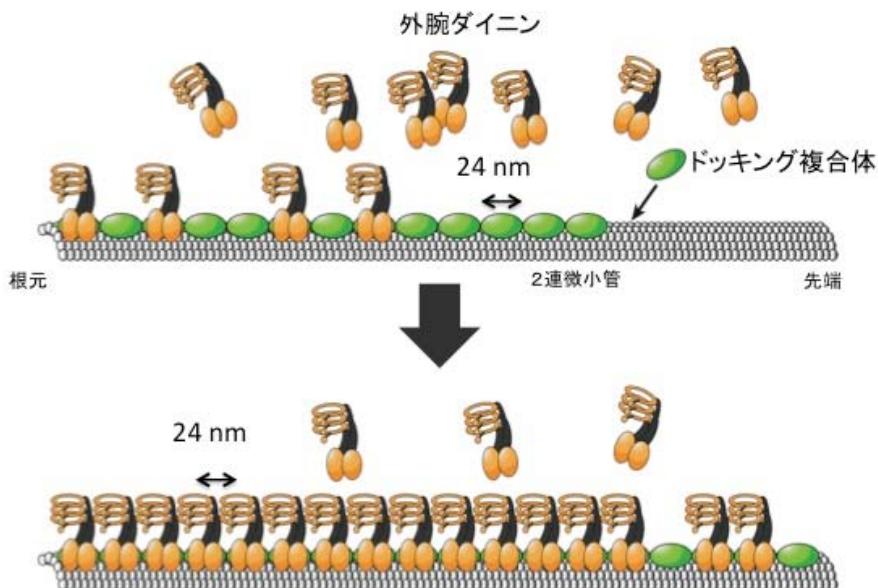


図2 外腕ダイニンの24 nm周期構築モデル。まず、2連微小管の根元から先端に向かって、長さ24 nmのドッキング複合体が数珠つなぎに結合する。そこに、ドッキング複合体1つにつき1つの割合で外腕ダイニンが後から結合していき、最終的に外腕ダイニンが24 nm周期で配列する。

●今後の展開

外腕ダイニンの周期性構築メカニズムの一端は判明したが、ドッキング複合体が実際に分子定規として機能しているか否か、長さを改変したドッキング複合体を用いて確かめる必要がある。さらに、なぜ微小管上の決まった位置にしか結合しないのかという謎が残っている。研究チームは、現在ドッキング複合体の結合位置決定メカニズムの解明にも着手している。今後、同じストラテジーによって、鞭毛の他の構造の周期的結合にも迫り、「どんな生物の鞭毛も長さ方向に96 nmの厳密な周期的構造をつくりあげる」メカニズムの謎に迫っていくたい。

【用語説明】

(1) 鞭毛・纖毛：真核細胞から生える毛状の細胞小器官。「1細胞からたくさん生える数 μm 程度の短いもの」を纖毛、「1細胞から数えられる程度生えるそれより長いもの」を鞭毛と呼ぶ習慣があるが、これらは本質的には同じ器官

である。ダイニンの駆動により波打ち運動を行うタイプと、ダイニンを持たないため動かず、化学・力学センサーとして働くタイプがある。

(2) ダイニン：微小管の上を動くタンパク質。生体エネルギーATP（アデノシン 3 リン酸）の加水分解によって得られたエネルギーで構造変化して動く。

(3) 微小管：チューブリンと呼ばれるタンパク質が重合してできあがった、中空のタンパク質纖維。直径約 25 nm。

(4) ドッキング複合体：外腕ダイニンの基部にあって微小管結合に介在するタンパク質複合体。分子量約 83k, 62k, 21k の 3 つのタンパク質から成る。このうち 62k の遺伝子はヒトに至るまで進化的によく保存されており、そのダイニンドッキング機能も保持されていると考えられている。

(5) 回転蒸着電子顕微鏡法：タンパク質表面に白金を蒸着させ、電子顕微鏡によって「分子のかたち」を際立たせて観察する手法

(6) 化学架橋法：化学架橋剤を用いてタンパク質間に共有結合を作り、それらの相互作用様式を判定する手法

【論文情報】

Cooperative binding of the outer arm-docking complex underlies the regular arrangement of outer arm dynein in the axoneme

Mikito Owa, Akane Furuta, Jiro Usukura, Fumio Arisaka, Stephen M. King, George B. Witman, Ritsu Kamiya, and Ken-ichi Wakabayashi

PNAS 2014 ; published ahead of print June 16, 2014, doi:10.1073/pnas.1403101111

【問い合わせ先】

東京工業大学 資源化学研究所准教授 若林憲一

Email: wakaba@res.titech.ac.jp

TEL: 045-924-5235

FAX: 045-924-5268