

細胞小器官“鞭毛”の構築と機能原理

榊原 斉

我々が研究対象にする鞭毛は、ミドリムシなどの原生動物からヒトなど脊椎動物に至るまで真核生物の多くにおいて細胞が液中で推力を得るときに使われる共通の細胞小器官である。鞭毛は自律的に時間空間的に調和した波打ち運動を発生する仕組みを備えている。その巧妙な仕組みを解明することにより、ICT 技術に応用可能な新規技術を抽出できると考えられる。ここでは、鞭毛の構造と動作機構についてバイオ ICT 研究室の研究の取り組みについて紹介する。

1 はじめに

1.1 細胞小器官

地球上で暮らす我々生物には、ナノメートル単位の大きさの DNA やタンパク質など機能分子やその集合から、生物の最小単位、1～数十マイクロメートルの大きさの細胞、そして細胞が集合してより高次の機能を発揮する組織にいたるまで、高度な生命活動を行うシステムの階層が存在する。細胞小器官は、細胞の1つ下の階層に位置し、我々ヒトなどが属する細胞内に核を有する真核生物とよばれる生物の細胞内に観察される（参考文献^[1]、図1）。大腸菌など原核生物と呼ばれる生物の細胞の大きさ（1～数マイクロメートル）と同程度で原核生物の細胞内にはない。

細胞小器官は、それぞれが細胞の活動にとり専門的かつ重要な機能を分担している。たとえば、代表的な細胞小器官ミトコンドリアは、生物のエネルギー通貨である ATP を生産する重要な役割を持つ。また、葉

緑体は、植物の細胞内で光合成を行う役割を持つ。ゴルジ体は分泌小胞の輸送などに関わる。細胞小器官のうち、ミトコンドリアや葉緑体は2重の膜に包まれ器官内に隔離された環境を持ち、自律的に機能を発揮する。宿主である細胞本体は、調節因子を使いそれらの活性を外から調節する。ミトコンドリア、葉緑体は、独自の遺伝子を持ち、分裂により増殖する。この両者の起源は、バクテリアや光合成細菌の藍藻などの生物が真核生物の祖先の細胞内に取り込まれ、共生したことによるという説が有力視されている^[2]。

生物が細胞単位で液体に推力を及ぼす場面で活躍する細胞小器官が鞭毛、繊毛である^[3]。鞭毛・繊毛は、時間空間的に調節された波打ち運動を示す。細胞に多数存在すると繊毛と呼び、1～2本存在するときは鞭毛と呼ぶが、基本的に同一である。形態が似ていることと共生関係にある生物が存在することから、ミトコンドリアなど同様に鞭毛の起源がスピロヘータであるという説が提唱されたこともあったが、これについては、現在是否定的に考えられている。人体では、気管、卵管、脳室などで繊毛が体液の流動を作りだし、また精子の鞭毛運動を担う等重要な役割を果たす。また、最近では繊毛が、細胞の化学的センシングや情報処理に重要な役割をもつこと、多くの組織の形成過程に重要な機能を持つことなどが明らかになってきており、注目されている^{[4][5]}。

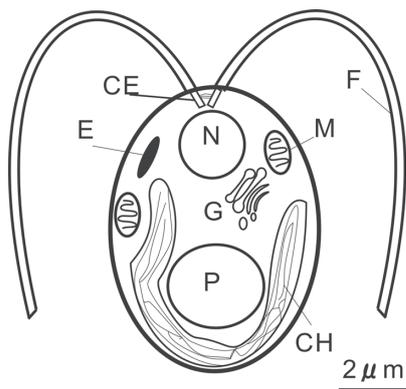
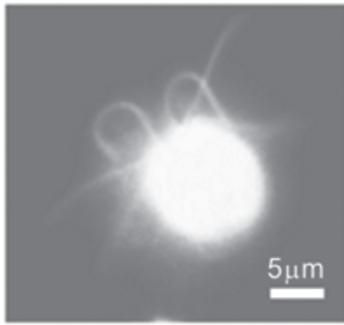


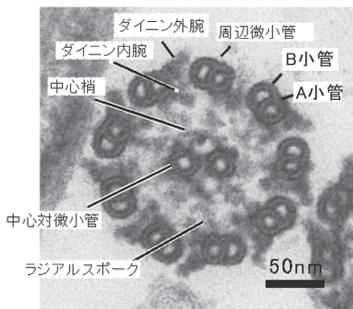
図1 鞭毛研究のモデル生物、単細胞緑藻、クラミドモナスの細胞小器官
クラミドモナスは光合成の研究にも使われる。N：核、CE：中心体（鞭毛の基部体を兼ねる）、CH：葉緑体（クラミドモナスの場合カップ状）、E：眼点（単細胞緑藻に特有の色素胞、付近に光受容体が存在する）、F：鞭毛、G：ゴルジ体、M：ミトコンドリア、N：核、P：ピレノイド（でん粉を貯蔵する）。

1.2 自律運動する細胞小器官“鞭毛”

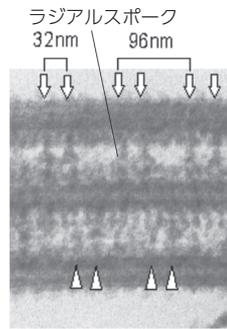
鞭毛の横断面をみると、内部に一对の中心対微小管を9本の周辺微小管が取り囲む構造を観察できる（図2 B）。この「9+2」と呼ばれる構造は約200種類ものタンパク質が精緻に組みあがってできたもので、ミドリムシからヒトまで繊毛・鞭毛を持つ真核生物で基本的に共通である。それぞれの周辺微小管からは隣接する周辺微小管に向かって2つのダイニン腕が



A: クラミドモナスの鞭毛運動 (ストロボ撮影)



B: 鞭毛内部構造横断面の電子顕微鏡像



C: 縦断面
鞭毛の長軸方向には 96nm
周期がみられる矢印、矢頭:
ラジアルスポークの位置

図2 単細胞緑藻クラミドモナスの鞭毛

突出する。このダイニン腕を形成しているタンパク質モーター、ダイニンが、ATPを加水分解して得たエネルギーを使い、隣の周辺微小管のB小管との間に滑りを発生することが鞭毛運動の原動力である（一般解説、文献^[3]）。

ウニ精子やクラミドモナスの細胞、或いは細胞体から切り離したクラミドモナス鞭毛を界面活性剤で細胞膜を除去し鞭毛の内部構造（鞭毛軸系）をむき出しにしたものにATPを加えると、鞭毛軸系は、生体に近い波形で振動運動する。このことから、鞭毛には、細胞から“曲げろ”、“伸ばせ”と指令を受けなくても自律的に時間空間的に整った波打ち運動を発生する仕組みを備えていることがわかる。生物は、化学物質や光など細胞周りの環境を感知し、好みの方向に細胞を進めたり細胞周りの液体の流動を調節したりする。目的を果たす為にカルシウムイオン濃度の上げ下げ、リン酸化反応のカスケードなどの細胞内情報伝達を使い、鞭毛運動の活性や波形をコントロールする。いわば、分子通信で鞭毛運動を制御しているようなものである。

我々は、細胞小器官、鞭毛の運動発生機構に注目している。生物は、鞭毛という精緻に組み上げられた構造を使い、時間空間的に調和した鞭毛運動を自律的に発生させ、しかも情報伝達物質を使い自在に制御して

いる。すなわち、分子ネットワークのモデルケースとして鞭毛の動作機構を研究することは、そこから新たな技術のヒントを得ることができる可能性が非常に高いと思われ、われわれはミッションの1つとして研究対象としている。

鞭毛の動力タンパク質ダイニンは自身に掛かる抵抗を感知し出力を変化させ振動を発生する能力があることが示されており、自律的波打ち運動に大きく関与すると考えられる。そこで、鞭毛運動の一番の基になるダイニン分子が動きを作り出すしくみの解明を目的に、ダイニンが力発生するときどのような構造変化するのか又ダイニンの運動特性を解析してきた。また、生物種間で鞭毛の構造は保存性が高いことから、鞭毛運動の発生には鞭毛構成要素の空間配置が重要であると考えられる。そこで、ダイニンの鞭毛内における空間配置の解析を行った。

2 研究成果

2.1 ダイニンの鞭毛内 3D 配置

周辺微小管、中心対微小管など、チューブリンというタンパク質が重合してできたチューブ状の繊維、微小管は、鞭毛にとって最も重要な骨格である。鞭毛の構成要素配置は、チューブリン1個分の大きさ8 nmの整数倍の周期を基本に鞭毛の長軸方向に配列する。ラジアルスポークなど周辺微小管上の構造物は、96 nm周期で配列する(図2 C)。ダイニンは鞭毛周辺に円筒状に配置した周辺微小管上に配列する(図2 B)。それぞれの周辺微小管上のダイニンが均等に力を発生したら、平面的で整った鞭毛波形を形成できないことは自明である。鞭毛波形形成の為に、それぞれの周辺微小管上でダイニンが立体的に精緻に配置され、鞭毛の曲りに応じて隣り合う微小管との相対的な位置が変化し、相互作用が調節されることが考えられる。しかしながら、これまで鞭毛内部の立体構造の詳細を知ることが非常に困難だった。最近、電子線トモグラフィ技術が発達したことにより、繊維・鞭毛の、中でも特に周辺微小管上の構造の立体配置を知ることが可能になってきている。電子線トモグラフィとは、約70~70度の範囲で試料を1~2度刻みで傾斜させた透過電子顕微鏡像の傾斜シリーズを素にフーリエ空間で強度補正をしたのちに3次元再構成する技術で原理はCTスキャンと同一である(C Tは computed tomography の略)^[6]。

我々は、スイス連邦工科大学チューリッヒ校のIshikawa博士のグループと共同で、鞭毛研究のモデル生物、クラミドモナス(図1)の周辺微小管上のダイニンの立体配置を約4 nmの分解能で明らかにした

(図3)。そして、特定のダイニンを欠失した突然変異株と野生株鞭毛との構造の比較から、周辺微小管上の11種類のダイニンの内、7種類の立体的配置を決定した^{[7][8]}。なお、Ishikawa博士らは、その後すべてを決定している^[9]。鞭毛のダイニン外腕は1種類のヘテロトリマー（重鎖からなる）の外腕ダイニンが96 nm周期中に4個並んでいる。次項で詳しく述べるが、モータ活性の中心であるダイニン頭部は非対称なリング状の構造をしている^{[10][11]}。周辺微小管上では、外腕ダイニンの頭部リングがA小管と平行に積み重ねることが観察された^[7]（図3 B 外腕の破線）。ダイニンは尾部に対して頭部リングが回転するように動き、頭部リングからリング面に沿って突き出たストークの先端に結合した微小管を引くようにして動かすと考えられている（次項参照）^{[12][13]}。それから考えると外腕ダイニン頭部の配置は一見奇妙である。しかしながら、軸糸の横断面をみてみると、各頭部リング平面の延長上に隣の周辺微小管のB小管が位置しており（図3 D）、A小管上に積み重なった頭部の配置は隣の周辺微小管との相互作用に好都合であることがわかる。一方、ダイニン内腕は、ダイニン外腕とは配置が全く異なっていた。クラミドモナスの場合、96 nm周期中に頭部を1個持つ単頭の内腕ダイニン6種類（a, b, c, d, e, g）とヘテロダイマー1種類（f, I1とも呼ぶ）が配列する様子が観察できた（図3 A）^[8]。内腕ダイニン重鎖の頭部は、ダイニンfのβ重鎖頭部を除いて7個が3次元的に1列に並んでいた。これまでの生化学的研究から、6種類の単頭ダイニンは、セントリンというタンパク質が軽鎖サブユニットとしてテールに結合するものと（I2: b, e, g）、P28というタンパク質をもつもの（I3: a, c, d）が、ちょうど3種類ずつあることが分かっている^[14]。立体配置を決定したことで、初めてI2とI3 2種類の単頭ダイニンの頭部が3個の対をつくり、寄り添うように並んでいることが判明した（図3 A）。それぞれの対はRS1-RS3のスポークの位置で丁度スポークを挟むように位置していた。このことから、単頭のダイニンは生体内ではダイマーとして機能する可能性が示唆されている^[8]。

構造の詳細が3次元的に観察できるようになったことで、軸糸内の構造ユニット同士に繋がりのあることが明らかになってきている。それらの繋がり、構造ユニット同士が繊毛・鞭毛運動を発生する時に協調して機能することに役立つと考えられる。ダイニン外腕は、A小管から見て一番上方のα頭部と真ん中のβ頭部がロッド状の構造で繋がり、そのロッドは内腕の方向へ延びている^[7]。96 nm周期にある4個の外腕のうち1つはロッド先端がダイニンfと繋がっている^[8]（図3 A 矢印）。そこから1個とばした次の外腕は、

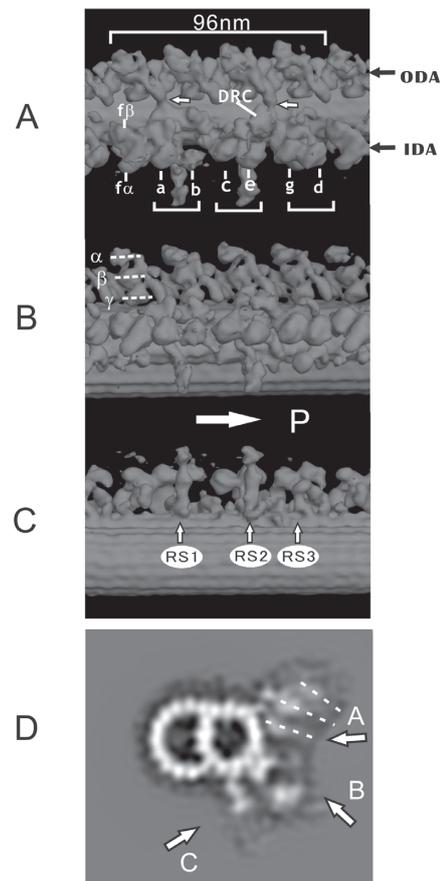


図3 周辺微小管上の構造の電子線トモグラム

Bui等(2008)^[8]のデータを使用し、図にした。右方向が鞭毛の先端。スポークヘッドはデータに含まれていない。A、B、C側面からの眺め。D、3個の外腕ダイニン頭部が重なる位置の横断面断層像。A、B、Cそれぞれの観察方向をDに示した。A中に配置はすでに決定された内腕ダイニン（a-f）の頭部の位置を示した。矢印：ダイニン外腕と内腕ダイニンfおよびDRCとのリンク。ODA：ダイニン外腕。IDA：ダイニン内腕。DRC：ダイニンレギュラトリーコンプレックス。B、ダイニン内腕側からの観察。各ダイニンの尾部が鞭毛の先端方向に出ていることが分る。外腕ダイニンα、β、γ各重鎖の頭部の位置を示す。BおよびDに外腕ダイニンの頭部リングの向きを破線で示した。C、RS1、2：ラジアルスポーク1および2。RS3：ウニ精子などのラジアルスポーク3の位置に存在する突起。

ロッドの先端が、ダイニンレギュラトリーコンプレックス（DRC）と呼ばれる構造と繋がり、DRCはダイニンeおよびSP3近くのダイニンgの基部と繋がっている^{[15][16]}。また、P28をサブユニットに持つ単頭内腕ダイニン（a, c, d）の基部は、ラジアルスポークをアンカーする構造と結合していることが報告されている^[17]。

2.2 力発生時におけるダイニンの構造変化

自律的に発生する鞭毛運動の機構を理解するためには、運動の一番基礎になるダイニンの機能発現の仕組み、特性を知る必要がある。

ダイニンは、AAA + タンパクの1つとして分類される（解説、文献^[18]）。AAAタンパクとは、ATPases Associated with diverse cellular Activitiesの略で、

2 生命の基本原理の探求

ATP 分解のエネルギーを使い機能を果たすタンパク質のグループで様々な機能に分化している。多くの場合それぞれが ATP 分解活性を持つ AAA サブユニットによる 6 量体のリング状の構造をとる特徴がある。ダイニンは、およそ 4500 アミノ酸残基からなる巨大なタンパク質である。その N 末端 1/3 はテールと呼ばれ、軽鎖や中間鎖などが結合する (図 4 A)。この部位のアミノ酸配列はダイニンの種類によって大きく異なり、それぞれのダイニンを足場に固定する役割をもつ。残り 2/3 の領域が微小管の滑り運動発生を担うモータ領域である。モータ領域には 6 つの AAA ドメイン (AAA1-AAA6) があり、リング構造をとる。テールと最初の AAA1 を繋ぐ構造はリンカーと呼ばれ、AAA リングを横断する。AAA4 の C 末から長さ約 20 nm のストークと呼ばれる突起が突き出る。その先端が、ダイニンの動きと同期して、タンパク質レール、微小管と相互作用する (図 4 A)。

我々は、2003 年に英国リーズ大の Burgess 博士らと共同で、ネガティブ染色電子顕微鏡法と単粒子画像解析法を使い、力発生前後の状態での固定したクラミドモナス内腕ダイニン c の構造の比較から、ダイニンの力発生時に AAA1 を起点にダイニンヘッドがテールに対して約 26 度回転することを明らかにした^[12] (図 4 B)。

ネガティブ染色電子顕微鏡法は、重金属でタンパク

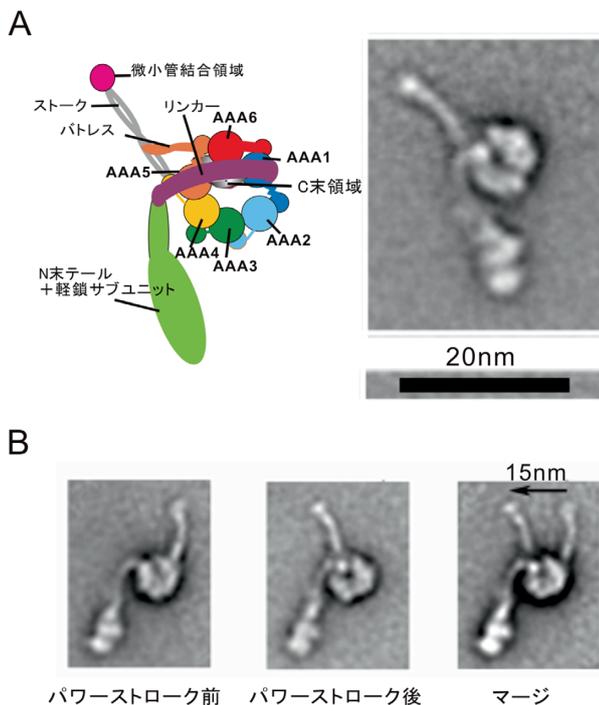


図 4 力発生時の内腕ダイニン c の構造変化
A: 内腕ダイニン c 構造の模式図^{[10][11]}、ネガティブ染色電子顕微鏡法と単粒子画像解析で得られた分子像を対比させた。電子顕微鏡像は透過像なのでヘッド上のリンカーなどは他の構造と重なってよく見えない。
B: ネガティブ染色電子顕微鏡法と単粒子画像解析で明らかになったダイニンヘッドの回転 (電子顕微鏡像は文献^[12]を改変)

質分子を染色するので、コントラストの高い分子像を得ることができる。しかし、染色と乾燥による試料変形が生じる可能性がある。より自然に近い構造を知るために、試料を薄く氷包埋し、液体窒素温度で観察するクライオ電子顕微鏡法が使われる。しかしながら、水とタンパク質の電子密度の差を使い試料観察するため、像の SN 比が悪く、多数の像の平均をとる必要がある。1 万以上の像を集め、それぞれの像の形状の関連から投影角度を決定し、3 D 構造を再構成することで、ダイニン c の 3 D 構造を約 2 nm の分解能で再構成することに成功した^[19] (図 5)。

リンカーは力発生前では位置が一定でない為、平均像がかすれ見えなかった。しかしながら、リンカーの存在確率の高い場所を求めると、リンカーが AAA1 近くで屈曲してリンカーの先を大きく動かしている様子がわかる (図 5 B)。力発生後では、リンカーが AAA リングを横断する像のはっきり観察できた。力発生後では、リンカーとテールの継ぎ目付近と AAA4 ドメインとの結合が示唆された (図 5 橙色矢印)。力発生前にはそのような結合はみられず、かわりにリンカーの起点付近で AAA2 ドメインと相互作用が示唆され (図 5 青矢印)、力発生時にリンカーと AAA リングとの相互作用が組み変わることが示唆された。また、AAA リングの形態の変化も観察できた。力発生後と比較して力発生前はコンパクトで、力発生後にみられる AAA1 と AAA2、AAA5 と AAA6 の 2 つの隙間が力発生前

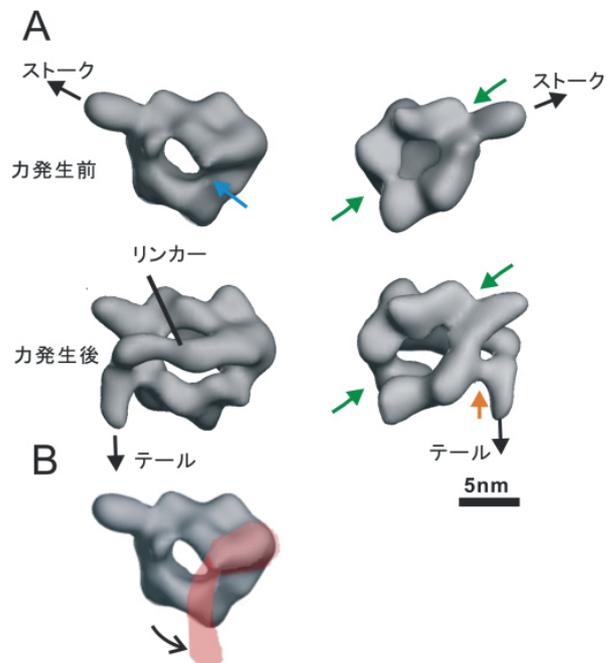


図 5 内腕ダイニン c 頭部構造の 3 D 再構成
A: 力発生前後のダイニン c 頭部の構造
B: 画像分散より求めた力発生前の状態のリンカーの位置
力発生に伴い、リンカーがスウィングするように動くことがわかる (文献^[19]からデータ引用)

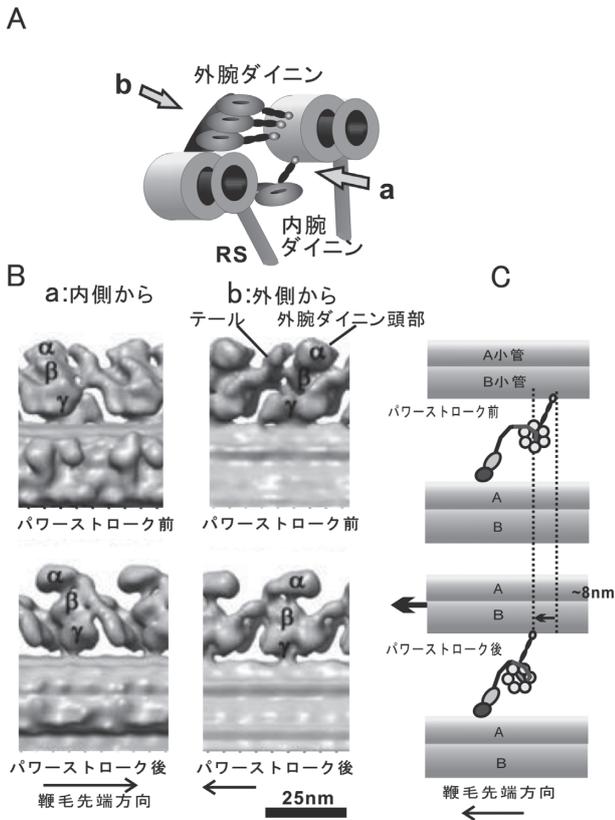


図6 鞭毛内におけるダイニンの構造変化
 A: 眺めた方向
 B: 力発生前後の外腕ダイニンの立体構造
 C: ダイニンヘッドの動きの模式図

には見られなかった (図5 緑矢印)。このように、力発生時のダイニンヘッドの立体的な形態変化が明らかになった。特にリンカーは力発生に大きく関与するので、その動きが明らかになったことは、意義が大きいと考えられる。

では、ダイニンは実際に鞭毛内ではどのように構造変化するのか。電子線トモグラフィで鞭毛内における力発生時のダイニンの構造変化を観察した(図6)。単離精製したダイニンと同様に鞭毛内でも、ダイニンはテールに対してヘッドが回転することが確認された。ところが、ストークがスウィングするような変化は見られず、力発生前後で平行に微小管上を約8 nm 移動することがわかった (図6 B、C)。結論として、鞭毛内でダイニンは、ヘッドが回転しながらストークを巻き取るように動く、まるでウィンチのように働くことが判明した^[13](図6 C)。

2.3 鞭毛ダイニンの力学特性

ダイニンは鞭毛運動の他に神経の軸索輸送やゴルジ体などにおける細胞質における物質輸送や核の運動など細胞内の様々な運動において重要な役割を持つ。細胞質ダイニンは、2個のダイニン分子が交互に微小管を強い結合で掴みながらまるで2本の手でロープを順

に送るかのように微小管上を進行することが示されている^[20]。この運動様式は小胞に結合したダイニンが少数分子で微小管を離さず長距離進むように進化した結果であると考えられる。

細胞質ダイニンと比較して、鞭毛ダイニンは運動発生サイクル中における微小管と強く結合して力発生する状態の時間割合が少ない。この性質は、鞭毛の周辺微小管間に高速の滑りを発生させるために多分子が協同して微小管を速く滑走させるため内部抵抗を減らす意味があると考えられる。多分子で協調して速い滑りを作り出すモータには骨格筋のミオシンがある。当初、鞭毛ダイニンは、多分子で滑り発生をすることから、その力学特性は骨格筋ミオシンと同様であろうとされていた。しかしながら、鞭毛ダイニンの力学特性を調べることで、鞭毛ダイニンは骨格筋のミオシンにない性質をもつことを我々は見出した^{[21][22]}(図7)。それは、鞭毛ダイニン、特に内腕ダイニンはタンパク質モータがアクチンや微小管などのレールから解離せずに複数ステップ運動する連続運動性 (processivity) が高いということである。連続運動性の高いクラミドモナス内腕ダイニン c 単一分子を微小ビーズに吸着し、光ピンセットで捕捉しその運動を観察すると図5 Bのように微小管上をステップ状に進む様子が観察できる。ステップの間隔を測定すると丁度チューブリンと同じ大きさの8 nm だった。ダイニンは微小管の格子を認識しながら結合解離を繰り返して進むことが示唆される。ダイニン c は2、3ステップの後ずさり運動を示し、その頻度は負荷が増すにつれて増加した。この負荷に応じた反応はダイニンに固有な物であり、鞭毛運動のときのフィードバックに何らかの関与をしているかもしれない。

図3にみられるように、鞭毛内には複数種類のダイニンが共存している。それぞれのダイニンはモータ活性そのものが異なることが報告されている。インヴィトロ運動アッセイで、それぞれのダイニンは異なる速度で微小管滑りを発生する。異なる運動活性を持つ鞭毛ダイニンが、1本の周辺微小管上に共存することは、一見、非常に非効率なことに思える。遅い滑り速度を持つダイニンは、速く微小管を滑らせるダイニンの抵抗になりかねない。実際に速い滑り速度を持つダイニン c と遅い滑り速度を持つダイニン f をガラス基板上で共存させ、それらに微小管を相互作用させ滑り運動を再構成すると、ダイニン f はダイニン c の抵抗として働く (図8 B)。しかしながら、ダイニン f を押す力が強くなりある一定値を超すとダイニン f は急速に微小管との結合を離し、抵抗として働かなくなる^[22](図8 C)。これらのことから、鞭毛運動中で、多様なダイニンは、鞭毛運動中で働く場面、例えば微小管間

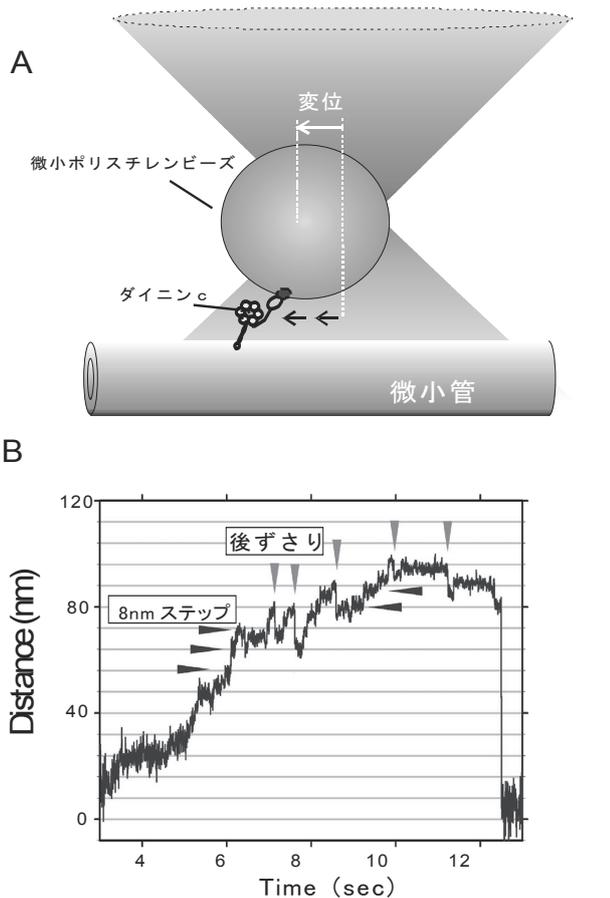


図7 内腕ダイニンcの単一分子運動計測
 A: 実験の概念図。微小ポリスチレンビーズに少数のダイニンを結合させ光ピンセットでそのビーズを捕捉、ATP存在下で微小管と相互作用させた。
 B: ビーズの変位のトレース (文献^[21]の図を改変)。8 nm ステップ (横矢じり)、および後退運動 (下向き矢じり) を示した。

の滑りが遅く大きな滑り力が必要な部分とすべりが早くさほど大きな力を必要としない部分などが違うが、必要とされない時のダイニンは抵抗にならないように微小管との結合を外す様な仕組みがダイニンに備わっているということが考えられる。あるいは、すべりの抵抗になるダイニンが存在することで滑りから曲げへの変換を助けるのかもしれない。

2.4 鞭毛運動調節におけるダイニンテールの構造変化

細胞内で様々な機能の調節因子として働く Ca^{2+} は、鞭毛や繊毛の運動波形を変化させる信号として働く。クラミドモナスでは、高 Ca^{2+} 濃度 (pCa 5 以上) で鞭毛打は非対称から対称的な波形になり、細胞は後退する。外腕ダイニン γ 重鎖は、 γ 重鎖欠失株の運動性やカルモジュリン類似の軽鎖を結合していることから、 Ca^{2+} による波形変化との関わりが示唆されている。ネガティブ染色電子顕微鏡法とその像の単粒子画像解析により外腕ダイニン γ 重鎖の分子形態に対する Ca^{2+}

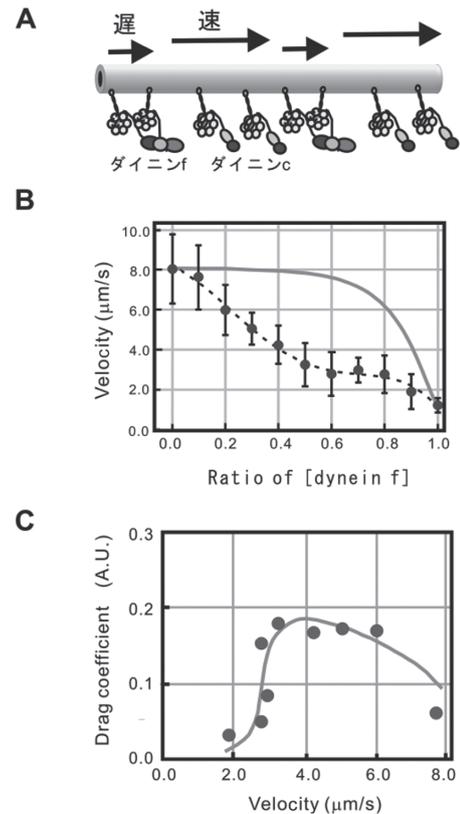


図8 In vitro 運動アッセイにおいて、様々な混合比で内腕ダイニンcとfを混在させたガラス表面上を運動する微小管の滑り速度
 A: 実験の概念図。1本の微小管に多分子のダイニンが相互作用する条件とした。
 B: ダイニンcとfの混合比に対する微小管滑り速度変化。灰色の実線はダイニンc単独で表面密度を変えたときの微小管滑り速度。ダイニンfとの混合実験の値との差が抵抗による効果。
 C: ダイニンf 1分子あたりの粘性抵抗係数を計算して微小管滑り速度に対してプロットしたもの。ダイニンcの力-速度関係を用いて計算した(BとCは文献^[22]の図を改変)。

イオンの効果を調べた。その結果、ヘッ드의構造には Ca^{2+} 濃度上昇による変化は見られないが、テールにある折れ曲りが低 Ca^{2+} 濃度では曲がり角が小さく、高 Ca^{2+} 濃度下では角度分布が大きく広がることが分かった^[23](図9)。この観察結果は、ダイニンテールの形態変化が一般的に鞭毛の運動調節に使われる可能性を示しており、鞭毛内におけるダイニンヘッドの空間配置の鞭毛運動における重要性を示している。

研究の展望

最近、力発生後の状態の細胞質ダイニンの結晶構造が決定され、ダイニンの構造変化を原子座標のレベルで議論することが可能になってきた。鞭毛内の立体構造も次第に明らかになりつつある。しかしながら、実際の鞭毛運動中にはどのような構造変化が起こっているのか分子がどのように繋がり、動いているのか不明な点が多い。さらなる技術発展が期待される。

バイオの技術発展およびナノファブリケーションな

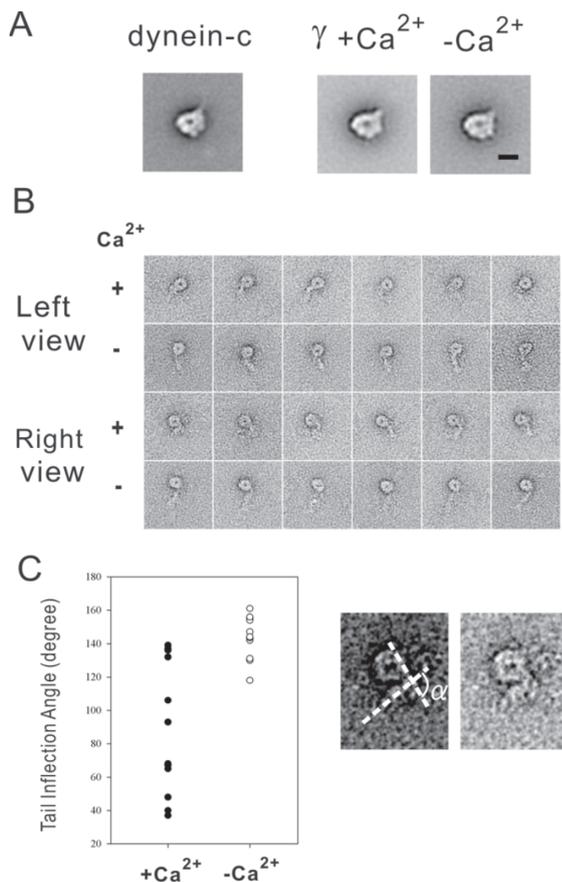


図9 カルシウムイオンによる外腕ダイニン γ のテール屈曲角変化
 A: カルシウム存在/非存在下における頭部の分子形状比較。外腕ダイニン γ の頭部の分子形状はカルシウムが存在しても目立った形状変化はなく、その形状は他のダイニンとよく似ていた。頭部の像を基に分子像のアライメントを行い、類似の形状を示すグループにクラス分けしクラス内で像平均した。ここでは、ダイニンのテールとストークが頭部の右に位置するものを示す。
 B: テールの形状を基にクラス分けした平均像。カルシウムが存在するとテールが大きく屈曲するものが現れた。
 C: テールの屈曲角の測定(文献²³⁾を改変引用)。

どのナノ技術の発展により、鞭毛など細胞小器官を操作したり、システムを模倣したモデル実験系を構築したりすることが可能になってきている。技術をさらに発展させて応用の道を開く時代はもうそこまで来ていると思われる。

謝辞

ここで紹介した研究は、大岩和弘博士、小嶋寛明博士、Anthony J. Roberts 博士 (Leeds 大)、Stanley A Burgess 博士 (Leeds 大)、Mathew Walker 博士 (Leeds 大)、Takashi Ishikawa 博士 (現在、Paul Scherrer Institute)、Kahn Hui Bui 博士 (Paul Scherrer Institute)、Tandis Movassagh 博士 (Paul Scherrer Institute)、Stephan M. King 教授 (Connecticut 大)、Miho Sakato 博士 (Connecticut 大)、小谷則遠博士との共同研究で行われました。

【参考文献】

- B. Alberts, A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, and P. Walter (著), 中村 桂子, 中塚 公子, 宮下 悦子, 松原 謙一, 羽田 裕子, 青山 聖子, 滋賀 陽子, 滝田 郁子 (翻訳), “細胞の分子生物学,” 第5版, ニュートンプレス, 2010.
- L. Margulis, “Symbiotic Planet: A New Look At Evolution,” Basic Science, 1998.
- 神谷 律, “太古からの9+2構造: 鞭毛の不思議,” 岩波書店, 2012.
- J. L. Badano, N. Mitsuma N, Beales PL, and Katsanis N., “The ciliopathies: an emerging class of human genetic disorders,” Annu Rev Genomics Hum Genet., Vol. 7, pp. 125-148, 2006.
- J. M. Gerdes, E. E. Davis, and N. Katsanis, “The vertebrate primary cilium in development, homeostasis, and disease,” Cell Vol. 137, pp. 32-45, 2009.
- Y. Frank (editor), “Electron Tomography: Methods for Three-dimensional Visualization of Structures in the Cell,” 2nd edition, Springer, 2006.
- T. Ishikawa, H. Sakakibara, and K. Oiwa, “The architecture of outer dynein arms in situ,” Journal of Molecular Biology, Vol. 368, pp. 1249-1258, 2007.
- K. H. Bui, H. Sakakibara, T. Movassagh, K. Oiwa, and T. Ishikawa. “Molecular architecture of inner dynein arms in situ in Chlamydomonas reinhardtii flagella,” The Journal of Cell Biology, Vol. 183, pp. 923-932, 2008.
- K. H. Bui, T. Yagi, R. Yamamoto, R. Kamiya, and T. Ishikawa, “Polarity and asymmetry in the arrangement of dynein and related structures in the Chlamydomonas axoneme,” J. Cell Biol., Vol. 198, pp. 913-25, 2012.
- A. P. Carter, C. Cho, L. R. Jin, and R. D. Vale, “Crystal structure of the dynein motor domain,” Science (New York, NY), Vol. 331, pp. 1159-1165, 2011.
- T. Kon, T. Oyama, R. Shimo-Kon, K. Imamula, T. Shima, K. Sutoh, and G. Kurisu. “The 2.8 Å crystal structure of the dynein motor domain,” Nature., Vol. 484 (7394), pp. 345-50, 2012.
- S. A. Burgess, M. L. Walker, H. Sakakibara, P. J. Knight, and K. Oiwa. “Dynein structure and power stroke,” Nature, Vol. 421, pp. 715-718, 2003.
- T. Movassagh, K. H. Bui, H. Sakakibara, K. Oiwa, and T. Ishikawa. “Nucleotide-induced global conformational changes of flagellar dynein arms revealed by in situ analysis,” Nat Struct Mol Biol., Vol. 17, pp. 761-767, 2010.
- S. M. King and R. Kamiya. “Axonemal dyneins: Assembly, structure, and Force Generation,” in The Chlamydomonas Sourcebook 2nd edition, Vol. 3, edited by G. B. Witman, pp. 131-208, 2009.
- D. Nicastro, C. Schwartz, J. Pierson, R. Gaudette, M. E. Porter, and J. R. McIntosh. “The molecular architecture of axonemes revealed by cryoelectron tomography,” Science Vol. 313, pp. 944-948, 2006.
- T. Heuser, M. Raytchev, J. Krell, M.E. Porter, and D. Nicastro, “The dynein regulatory complex is the nexin link and a major regulatory node in cilia and flagella,” J. Cell Biol. Vol. 187, pp. 921-933, 2009.
- G. Pigino, K. H. Bui, A. Maheshwari, P. Lupetti, D. Diener, and T. Ishikawa. “Cryoelectron tomography of radial spokes in cilia and flagella,” The Journal of Cell Biology, Vol. 2011.
- H. Sakakibara and K. Oiwa, “Molecular organization and force-generating mechanism of dynein,” FEBS Journal, Vol. 278(17), pp. 2964-2979, 2011.
- A. J. Roberts, B. Malkova, M. L. Walker, H. Sakakibara, N. Numata, T. Kon, R. Ohkura, T. A. Edwards, P. J. Knight, K. Sutoh, K. Oiwa, and S. A. Burgess. “ATP-driven remodeling of the linker domain in the dynein motor,” Structure, Vol. 20(10), pp. 1670-80, 2012.
- S. Toba, T. M. Watanabe, L. Yamaguchi-Okimoto, Y. Y. Toyoshima, H. Higuchi, “Overlapping hand-over-hand mechanism of single molecular motility of cytoplasmic dynein,” Proc Natl Acad Sci U. S. A., Vol. 103, pp. 5741-5745, 2006.
- H. Sakakibara, H. Kojima, Y. Sakai, E. Katayama, and K. Oiwa. “Inner-

2 生命の基本原理の探求

- arm dynein c of *Chlamydomonas* flagella is a single-headed processive motor," *Nature*, Vol. 400, pp. 586–590, 1999.
- 22 N. Kotani, H. Sakakibara, S. A. Burgess, H. Kojima, and K. Oiwa, "Mechanical properties of inner-arm dynein-f (dynein I1) studied with in vitro motility assays," *Biophysical journal* Vol. 93, pp. 886–894, 2007.
- 23 M. Sakato, H. Sakakibara, and S. M. King, "Chlamydomonas outer arm dynein alters conformation in response to Ca^{2+} ," *Mol Biol Cell.*, Vol. 18 (9), pp. 3620-34. 2007.

榭原 斉 (さかきばら ひとし)

未来 ICT 研究所バイオ ICT 研究室主任研究員
理学博士
タンパク質モータの生物物理