

2-3 調和された^{べんもう}鞭毛運動を引き起こすモータタンパク質、“鞭毛ダイニン”の機能及び構造の多様性

2-3 *Flagellar Dyneins: the Diversity of Structures and Functions*

榊原 斉

SAKAKIBARA Hitoshi

我々が研究対象にする鞭毛は、生物が細胞単位で液体に力を及ぼす時に使われる共通の細胞小器官であり、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。鞭毛の動作機構を知るためには、その動きの基礎となる鞭毛ダイニンと微小管との相互作用を理解することが重要であると考えられる。ここでは、鞭毛ダイニンの構造と機能の多様性を研究した生体物性プロジェクトの取組について紹介する。

One of our research subjects is the organelle "flagella of eukaryotes" which are equipped by large extent of organisms and are commonly used when cells are propelled in the liquid in cell units. The flagellum has mechanisms for autonomously generating flagellar waveforms which are harmonious in spatial and time. We believe that we can extract the applicable new technologies in ICT by elucidate those clever mechanisms. In order to understand the action mechanism of flagella, it is important to understand the interaction between flagellar dynein and microtubules, which is the basis of its movement. Here, I will describe the research efforts of Protein Biophysics Project that has studied the diversity of structure and function of flagellar dyneins.

1 はじめに

1.1 鞭毛、繊毛の自律運動

生物は、細胞単位で液体に力を及ぼす時に鞭毛、繊毛を使用する。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。鞭毛は、17世紀のオランダの科学者レーウエンフックにより見いだされた。彼は、自作の単レンズ顕微鏡で池の水を観察、水の中を肉眼で見られない大きさの微生物が泳いでいる様子を観察した。その後、顕微鏡の倍率を約270倍にまで上げることに成功した彼は、水中の微生物が2本の角のようなものを動かして泳ぐ様子やヒトの精子の観察に成功した[1]。

ミドリムシやゾウリムシのような単細胞原生動物から複雑な組織を持つヒトに至るまで幅広い生物が鞭毛・繊毛を持つ。植物は基本的に鞭毛を持たない。しかし、シダやソテツなどの精子は鞭毛を持つので、植物は進化の過程で鞭毛を無くしたと考えられる。人体では、気管、卵管、脳室などで繊毛が体液の流動を作り出し、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持つこと、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、その研究は医学や発生学の観点からも重要視されている[2][3]。我々が、鞭毛を研究対象にする大きな要因は、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からである(図1)(一般解説、参考文献[4][5])。例えば、鞭毛研究のモデル生物、単細胞緑藻のクラミドモナスから鞭毛を切り離し、その鞭毛の細胞膜を界面活性剤で除去し鞭毛の内部構造(鞭毛軸糸)をむき出しにした状態にし、そこにエネルギー源であるATPを加えると、鞭毛軸糸は生体に近い波形で振動運動する。生物は、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自律運動する鞭毛の活性や波形をコントロールし、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(図1)。言わば、細胞内で分子通信を行い、鞭毛運動を制御しているようなものである。鞭毛の動作機構を研究することは、分子通信ネットワークのモデルケースとして新たな技術のヒントを得られる可能性が非常

に高いため、我々のミッションの一つとなっている。

1.2 鞭毛の構造

鞭毛の横断面を見ると、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2A)。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上がってできたもので、絨毛・鞭毛を持つ真核生物で基本的に共通である。周辺微小管、中心対微小管は、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である。微小管は、細胞分裂のときに現れる紡錘糸や神経の繊維とも共通する細胞にとって最も重要なタンパク質繊維の一つである [4][5]。

鞭毛の動力は、タンパク質モータ、鞭毛ダイニンである。ダイニンは、モータ活性の中心であるリング状頭部を含む分子量約50万の重鎖ペプチドと尾部に結合する中間鎖及び軽鎖ペプチドから成る巨大なタンパク質複合体として存在する。鞭毛横断面ではそれぞれ

の周辺微小管上から隣接する周辺微小管に向かって突き出る2つのダイニン腕(外腕、内腕)を形成する。このダイニン腕を形成するダイニンが、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絨毛運動の基礎である。一口にダイニン外腕、内腕と称しているが、外腕は3種類の重鎖(α 、 β 、 γ)を持つ1種類の外腕ダイニンが数個、内腕は1個の重鎖を持つ6種類の内腕ダイニン(a-e、g)と2個の重鎖(I1 α 、I1 β)を持つ内腕ダイニン(f)が重なって観察されるものである。ここ数十年ほどの電子線トモグラフィ法の発展により、鞭毛ダイニンそれぞれが周辺微小管上でどのように立体配置されているのか、明らかになった(図2B、C) [6]-[8]。鞭毛軸系は、微小管を形成するタンパク質、チューブリンの大きさ、8 nmを基調とした周期で鞭毛の長軸方向に構造を繰り返す。内腕ダイニンは96 nm周期で配列する。立体配置が明らかになると、内腕ダイニンの頭部はI1 β を除く7種が鞭毛の内側に1列に並んでいることが分かった。外腕ダイニンは96 nm周期中に4個並んでいる。外腕ダイニンの3個の頭部はA小管と平行に積み重なる(図2C 外腕の破線)。

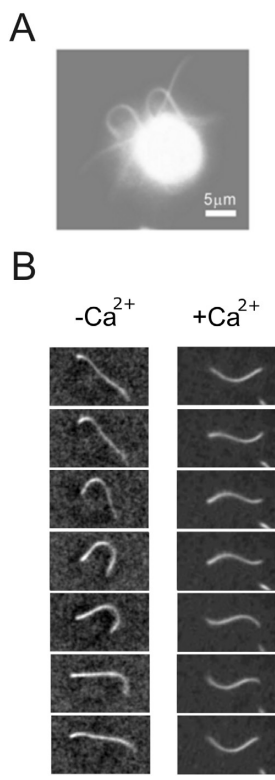


図1 鞭毛の自律運動

A: 鞭毛研究のモデル生物、単細胞緑藻クラミドモナスの鞭毛運動。ストロボ撮影。クラミドモナスは2本の鞭毛を平泳ぎのように動かし、遊泳する。

B: 鞭毛の自律運動

クラミドモナスの細胞体から鞭毛を切り離し、界面活性剤で細胞膜を溶かし内部構造を外に出す。そこへエネルギー源のATPを加えると、細胞体が存在しなくても通常に近い波形で振動運動をする。

生物は細胞内情報伝達物質を使い鞭毛運動をコントロールする。細胞内のカルシウム濃度が上昇するとクラミドモナスの鞭毛運動は非対称型から対称型へ変化する。(右パネル、この実験では鞭毛周りの溶液にカルシウムを添加した。暗視野顕微鏡で撮影、Bar=5 μ m、3 m秒間隔。)

1.3 滑りから屈曲へ

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。鞭毛が屈曲するためには、周辺微小管間の滑りが偏在することにより滑りの大きなところと小さなところとの間に屈曲が生じる(図3)。この屈曲と逆方向のすべりによる屈曲からの回復が鞭毛の先端方向へ伝搬し、鞭毛基部で新たな屈曲が始まることにより、鞭毛の波打ち運動が発生すると考えられている [9]。

1.4 鞭毛ダイニンの多様性

我々は、鞭毛運動の素過程である鞭毛ダイニンと微小管との相互作用を詳細に調べることが鞭毛運動の機構解明につながると考え、複数種の鞭毛ダイニンのそれぞれを単離精製し、構造や運動性を調べてきた。その結果判明したのは、それぞれのダイニンは、頭部の構造は共通性が高いが尾部に多様性がみられること、それぞれが異なる特性の運動性を持つということである。ここでは、我々の研究を通じて分かった鞭毛ダイニンの構造や運動の多様性とその意義を解説する。

2 研究成果

2.1 力発生時におけるダイニンの構造変化

我々が、鞭毛ダイニンの構造の詳細の研究を始めたのは20世紀の最終年、2000年である。英国リーズ大

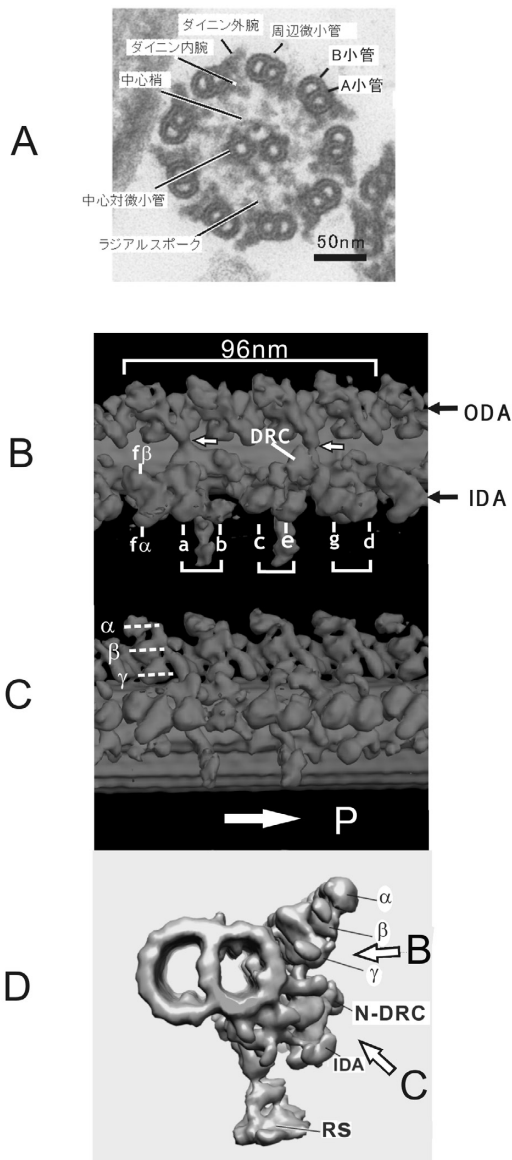


図2 鞭毛軸糸の構造

- A: クラミドモナス鞭毛軸糸横断面の電子顕微鏡像、鞭毛の基部から先端方向を眺めていることに相当する。二重染色、超薄切片電子顕微鏡法。
 B: C. 周辺微小管上の鞭毛ダイニンの配列。Dに観察方向を示す。BCD、クライオ電子線トモグラフィ法による像。
 B: 内腕ダイニンの配列。f α , a, b, c, e, g, dの頭部はほぼ1直線に並んでいる。aとb, cとe, gとdは頭部を1個しか持たないダイニンだが鞭毛内では隣接してペアを形成する。2個の白矢印は96 nm周期中2か所存在する外腕と内腕の繋がりを示す。ODA、ダイニン外腕。IDA、ダイニン内腕。
 C: 外腕ダイニンの並びを横から眺めた図。外腕の3個の頭部(α , β , γ)リングはA小管と平行に積み重ねるように配置する。
 D: 周辺微小管を長軸方向に眺めた図。N-DRC、ネキシン(周辺微小管同士を繋ぐ構造)。

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、内腕ダイニンcの力発生時の構造変化を解析した。ダイニンcを選んだ理由は、ダイニンcが頭部を一つ、ある程度の大きさを持つ尾部を持つダイニンで、ダイニンの中では比較的単純な構造を持つからである。2003年に、力発生前後の状態で固定したクラミドモナス内腕ダイニンc

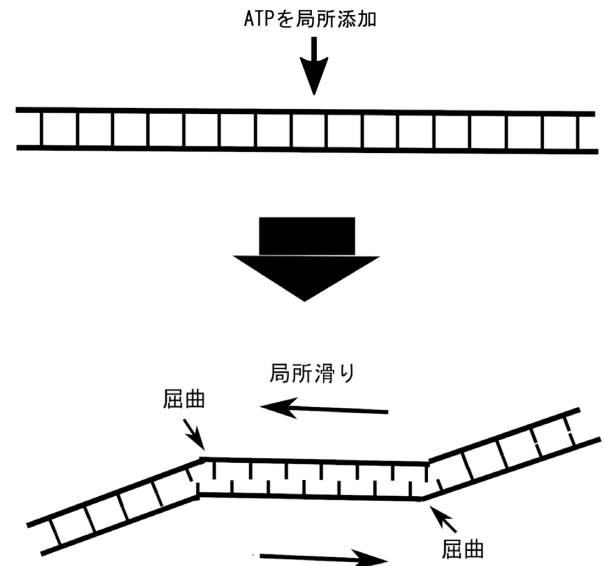


図3 局所滑りによる屈曲発生のイメージ

Shingyoji et al., [9]の実験を模式的に表したものである。鞭毛の屈曲を2本の繊維間のずれで簡易に表現。鞭毛軸糸に局所的にATPを加えると局所的に滑りが発生し、滑りが発生していない領域との間に屈曲が発生することが示されている。鞭毛内においても、周辺微小管間の滑りの偏在が屈曲発生の原因であると考えられている。

の構造の詳細を明らかにし、発表した[10]。ダイニンは中央にチャンネルのあるドーナツ状の頭部に尾部からリンカーと名付けられた構造に繋がっており、リンカーリングの結合点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[10](図4B)。頭部の回転により微小管結合部位は約15 nm移動した。その後、生体内では頭部の回転によりリンカーを巻き取る、まるでウィンチのように動作することが明らかになったが、リンカー結合部を起点に頭部リングが回転することは正しいことが明らかになった。現在では、細胞質ダイニンの結晶構造が解かれ、より詳細な構造が分かっている。図4Aに概略図を示す。ダイニンは、AAA + タンパクの一つとして分類される(解説、参考文献[11][12])。AAAタンパクとは、ATPases Associated with diverse cellular Activitiesの略で、が頭部リングの端から端まで橋渡した後に頭部リングに繋がること、ダイニンの力発生時にリンカーと頭部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。2003年時点の構造解析では、頭部リングとその上のサブドメインは観察できたがどのように繋がるのか、C末領域はどこにあるのかなど、不明な部分が多かったが、現在はすべて解明されている。およそ4500アミノ酸残基から成る巨大なタンパク質、ダイニンは、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

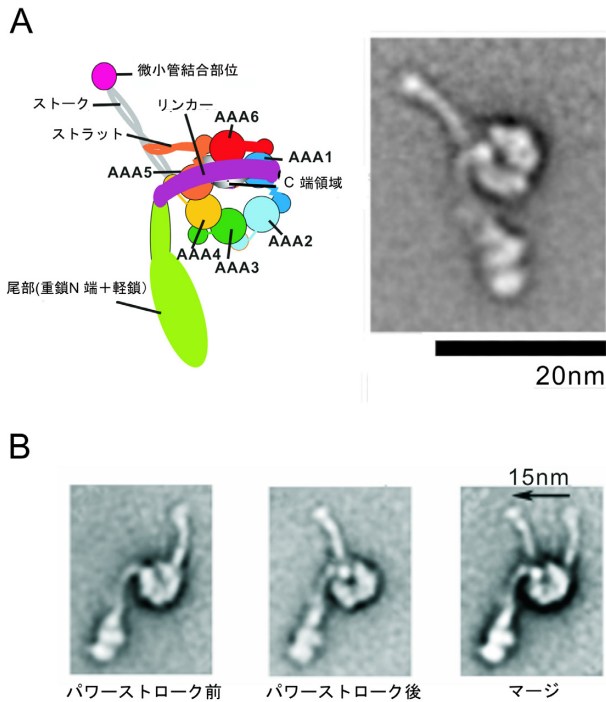


図4 力発生時の内腕ダイニンcの構造変化

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(電子顕微鏡像は参考文献 [12] を改変)。

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持つ。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末端から長さ約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)。微小管結合部位を先端に持つストークを支えるように位置するストラット(バトレスとも言う)という構造の存在が、結晶構造解析により明らかになった。しかしながら、後にネガティブ染色電子顕微鏡法でも観察できていたことが明らかになった。しかし、分解能不足でどのように繋がっているのか分からず、我々には、どのようなものか想像できなかった。

2.2 鞭毛ダイニンの構造の多様性

我々の研究室では60 Lものクラミドモナスの培養から鞭毛軸糸を単離し、そこから高塩濃度溶液で鞭毛ダイニンを抽出、陰イオン交換クロマトグラフィによって各種の鞭毛ダイニンを精製し、実験に使用している。それぞれのダイニン分子をネガティブ染色電子

顕微鏡法で観察し、その像を単粒子画像解析法でクラスター解析しクラス分けした後に、クラス内で平均した結果を図4に内腕ダイニン [13]、図5に外腕ダイニンについて示す。ダイニン頭部の構造はどれもよく似ており、特に、尾部が下方にあるとき頭部の右側からネックが突き出て見られるライトビューと呼ばれる方向からの像は相似性が高い。尾部の形態は多様である。尾部形態の多様性の理由の一つには、ダイニンが配置された場所から頭部を隣り合うB小管と相互作用できる決められた所に位置させるためであると考えられる。例えば、前述したように外腕ダイニンの3個の頭部リングはA小管と平行に積み重なる [7] (図2 C 外腕の破線)。前述したように、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 [10][14]。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、軸糸の横断面を見てみると、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2 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分かる。つまり、外腕ダイニンは3個の頭部それぞれが機能できるように適した形をしている。また、6種ある内腕ダイニンのうちダイニンb、e、gは、ダイニンa、c、dと比較して尾部が4 nm程短い。鞭毛軸糸内では、ダイニンbはダイニンaと、eはcと、gはdとペアを作り、頭部同士が近接する。周辺微小管上では、ダイニンa、c、dは同じプロトフィラメント(微小管長軸方向のチューブリン分子の並び)上に配置する。一方、ダイニンb、e、gは、1本隣の1段高いプロトフィラメント上に配置する。頭部の位置を調節するためダイニンb、e、gの尾部を短くしているのだと考えられる。

2.3 鞭毛運動調節タンパク質を尾部に結合したダイニン

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(pCa5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尾部領域に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。また、ダイニンb、e、gは、カルシウム結合タンパク質セントリンをダイニンfは生体内でリン酸化を受ける中間鎖タンパク質を尾部に結合している。尾部に結合したタンパク質がどのようにダイニンの機能を調節するのか、ネガティブ染色電子顕微鏡法とその像の単粒子画

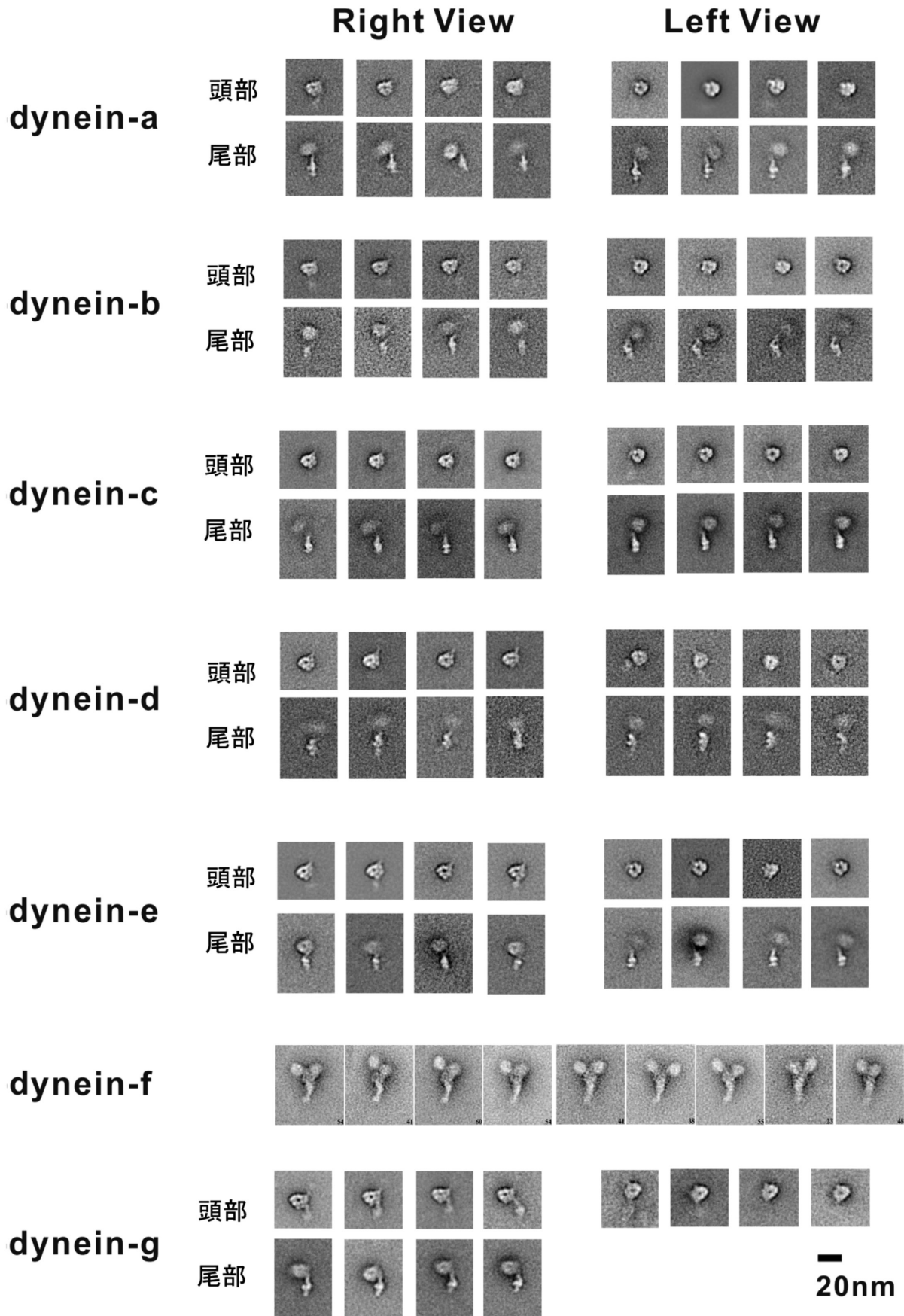


図5 7種の内腕ダイニンの単粒子解析

頭部—尾部間のネックに柔軟性があるため、分子全体で平均すると分解能が下がる。そのため、頭部と尾部を別々に単粒子解析した。Right View、尾部とストークが頭部の右側から突き出て見られるダイニン分子の向き。Left View、左側に見られる向き。参考文献 [13] からデータ引用。

像解析により外腕ダイニン γ 重鎖の分子形態対する Ca^{2+} イオンの効果を調べた [15]。外腕ダイニンは通常 3 個の頭部を持つが、高塩濃度抽出の過程でその結果、1) ヘッドの構造には Ca^{2+} 濃度上昇による変化は見られなかった。2) Ca^{2+} が存在すると、 γ 重鎖の尾部の屈曲しているものが多く観察された。3) 角度分布を調べると、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+} 濃度下では分布が大きく広がることが分かった (図 6)。この観察結果は、鞭毛運動には軸糸内の

ダイニンヘッドの空間配置が重要で、ダイニンの形態でダイニンヘッドの空間配置を少し変化することで鞭毛の運動が調節されることを示唆する。

2.4 鞭毛ダイニンの運動特性

繊毛・鞭毛上に配列する複数種のダイニンは、繊毛・鞭毛運動において機能分化していることがクラミドモナスの突然変異株を用いた研究から明らかになっている。ダイニン外腕を欠失すると、鞭毛波形に大きな変化はないものの鞭毛打頻度が顕著に低下する。さらに外腕ダイニン内の α 、 β 、 γ 3 種の重鎖間にも機能的差異が見られる。 α と γ の頭部を欠失してもダイニン外腕は一定の機能を保持するが (野生株と外腕欠失株との中間的な運動性を示す)、 β の頭部を欠失すると外腕としての機能をほとんど失う [16][17]。一方、ダイニン内腕が全て失われると、鞭毛の運動性は失われてしまう。部分的な欠失では、鞭毛打頻度の低下は少ないが、鞭毛打の振幅が減少するなどの波形変化が生じる (ダイニン f、ダイニン a、c、d、ダイニン a、c、d、e 欠失株など)。内腕ダイニン c を欠失した場合と内腕ダイニン f を欠失した場合では運動の力学特性の様相が大きく異なる。内腕ダイニン c だけを欠失した変異株は、通常の粘度の液体培地中では野生株とほとんど変わらない運動性を示す。しかしながら、細胞周りの粘度を上昇させると、推進力 (遊泳速度 \times 粘性抵抗係数) が野生株に比べて大きく低下する。ダイニン f を欠失した変異株は、推進力は野生株の 1/3 になるが、粘度を 10 倍に上げて推進力はほとんど変化しない [18]。

精製したダイニンを顕微鏡のスライドガラスに吸着し、その上を運動する微小管を観察するインビトロ運動アッセイにおいても、鞭毛ダイニンの運動性が多様であることを知ることができる。内腕ダイニンと外腕ダイニンに大きな特性の差がある。それは、タンパク質モーター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能力、連続運動性 (processivity) である。外腕ダイニンは連続運動性が低く、微小管の連続運動を発生するために多くの分子を必要とする。一方、内腕ダイニンは、高い連続運動性を示す (図 7 A)。鞭毛ダイニンは、多分子で滑り発生をすることから、どれも連続運動性は低いと考えられていたのでこの結果はある意味驚きであった。最初、ダイニン c の連続運動性が高いことが見いだされたが、その後ダイニン f 及びダイニン e の連続運動性も高いことが分かり、連続運動性が高いことは内腕ダイニン共通の性質であることが示唆される。内腕ダイニンが鞭毛打の振幅の増大する機能を持っていると考えれば長時間の微小管保持は必要な性質なのかもしれない [19]-[21]。

複数種類存在する鞭毛ダイニンは、それぞれ異なる

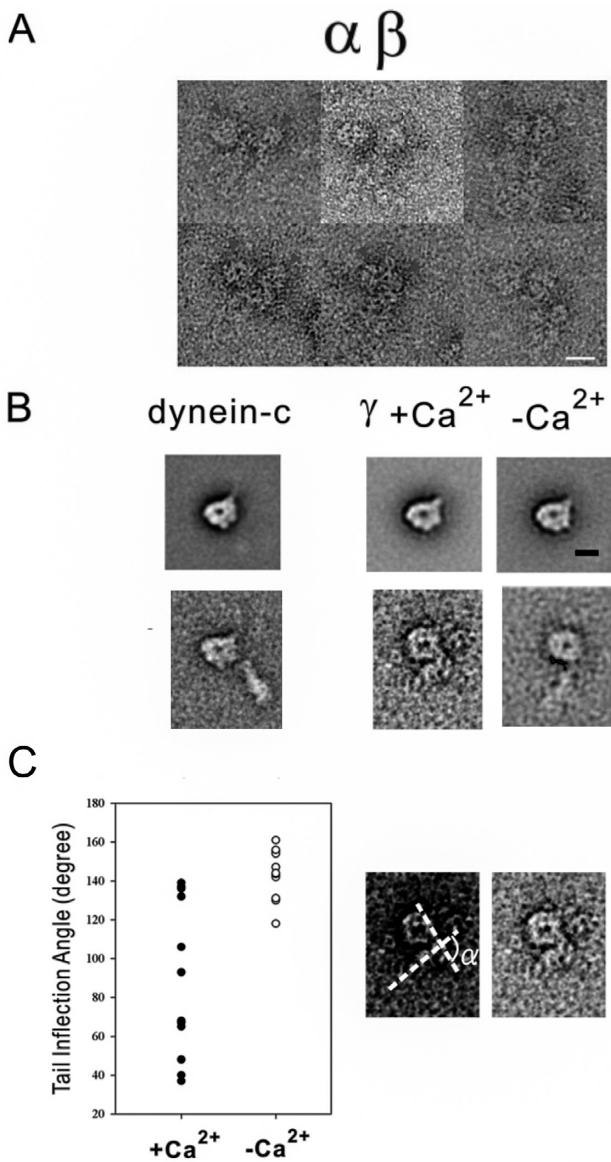


図 6 外腕ダイニンの単粒子解析

A、外腕ダイニン α β サブパーティクルのネガティブ染色電子顕微鏡像。3 個の重鎖を持つ外腕ダイニンは、高塩濃度抽出により α β サブパーティクルと γ に分離する。B、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 (参考文献 [15] を改変引用)。比較のために内腕ダイニン c の分子像を並べた。

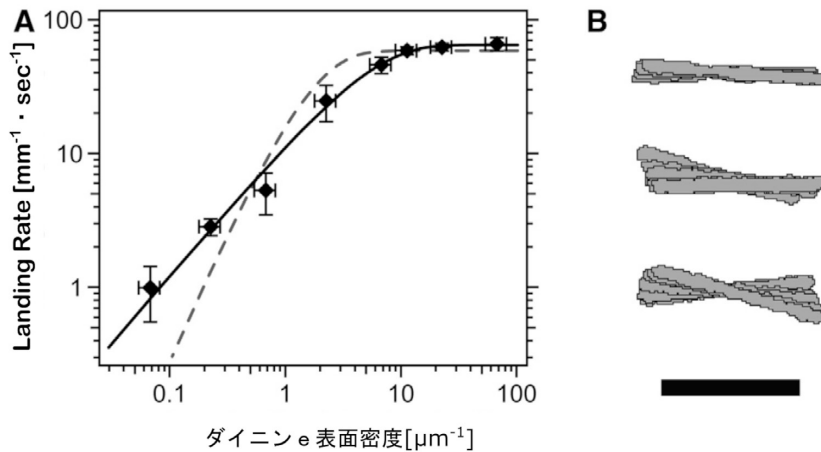


図7 内腕ダイニンe連続運動性のテスト

A: ダイニンeのガラス表面上の濃度を变化させ、それに対して、液中の微小管がガラス面に着地して滑り出す面積、時間あたりの頻度をプロットしたもの。実線、単一分子でダイニンが微小管滑りを発生できると仮定したときのフィッティング。破線、微小管滑りに2分子以上必要であると仮定したときの曲線。
 B: ダイニンeの表面密度が $0.1 \mu\text{m}^{-1}$ 以下の時の運動を示した微小管のトレース。微小管はガラス面上に1点で支持され、左右に振れながら運動する。参考文献 [21] の図を改変。
 Bar = $5 \mu\text{m}$ 。

モータ活性を持つことが報告されている [18]。異なる運動活性を持つ鞭毛ダイニンが、一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8A)。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 [20](図8C)。一方、ダイニンf同様遅い微小管滑りを起こすダイニンeは、異なった振る舞いをする。ダイニンcと混合してもダイニンc単独の場合からの微小管滑り速度の低下は全く観察されなかった(図9A)。さらに、ダイニンe単独の時の微小管滑り速度より速いダイニンcの滑りを加速した。速いダイニンの抵抗にならないダイニンeの性質は、ダイニンcに対して特異的でなく、他のダイニンに対しても同様の性質を示した [21](図9B)。

ダイニンeは、生体内で速い滑り速度を持つダイニン、ダイニンcと隣接している。ダイニンeはダイニンcの運動を阻害せずに微小管を支持する機構、例えばダイニンcが微小管に力を加えないときは微小管を支持するがダイニンcが力を発生すると素早く微小管から離れるような性質を有しているのだと考えられる。一方、ダイニンfは滑りの抵抗になり、滑りから曲げへの変換を助ける大きな役割を持つ可能性がある。それゆえ、ダイニンfだけ欠失した変異株でも鞭毛打の振幅が小さくなり、遊泳速度が2分の1になる。そして、速

く滑る場面では、微小管から手を離すのかもしれない。

このように、生物は、多様なダイニンを鞭毛運動中でそれぞれ働く場面を変え機能させることにより、自律的な鞭毛運動を効率よく発生し、細胞内伝達物質で運動を思いどおりに変化させる機構を持っている。

2.5 研究の展望

最近、鞭毛内の立体構造や運動中のダイニンの動きなど次第に明らかになりつつある。また、鞭毛運動のシミュレーションの試みも行われるようになってきている。バイオの技術発展及びDNA折り紙技術などナノファブリケーションなどのナノ技術も大きな発展をしてきており、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。著者自身は、カルシウムやリン酸化タンパク質などを使いナノ構造物の形を変化させたり、そこに配列した機能タンパク質の活性を制御したりする技術、分子通信の受信機側の技術が鞭毛の運動制御機構を参考にできないかと考えている。技術を更に発展させて応用の道を拓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、Stanley A Burgess 博士 (Leeds 大)、Mathew Walker 博士 (Leeds 大)、Takashi Ishikawa 博士 (Paul Scherrer Institute)、Stephan M. King 教授 (Connecticut 大)、Miho Sakato 博士 (Connecticut 大)、小谷則遠博士、清水洋輔博士との共同研究で行われました。

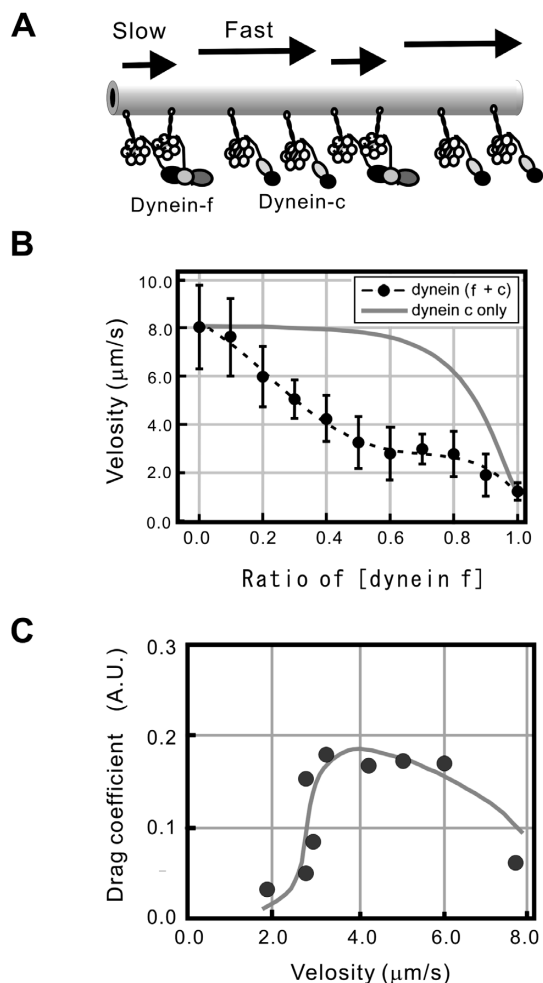


図8 In vitro 運動アッセイにおいて、様々な混合比で内腕ダイニンcとfを混在させたガラス表面上を運動する微小管の滑り速度

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は参考文献 [21] の図を改変)。

【参考文献】

- 1 Robert Krulwich / 訳=ルーバー荒井ハンナ, “微生物学の父” レーウェンフックは何を見たのか, ナショナルジオグラフィックス電子版, 2016. <https://natgeo.nikkeibp.co.jp/atcl/news/16/080400292/>
- 2 J. L. Badano, N. Mitsuma N, Beales PL, and N. Katsanis, “The ciliopathies: an emerging class of human genetic disorders,” *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.*, vol.7, pp.125–148, 2006.
- 3 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.
- 4 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.
- 5 神谷 律, “太古からの9 + 2構造: 鞭毛の不思議,” 岩波書店, 2012.
- 6 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.
- 7 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.
- 8 K. H. Bui, T. Yagi, R. Yamamoto, R. Kamiya, and T. Ishikawa, “Polarity

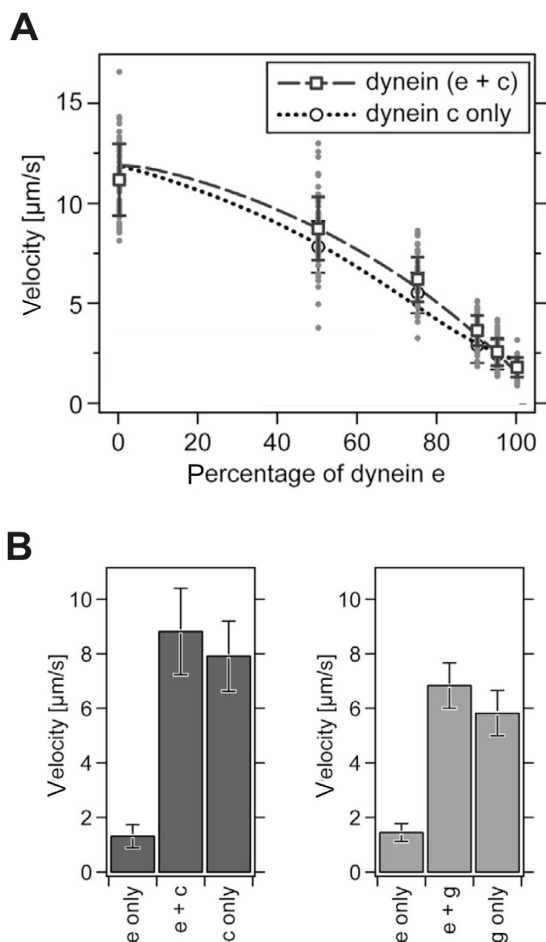


図9 In vitro 運動アッセイにおいて、様々な混合比で内腕ダイニンcとeを混在させたガラス表面上を運動する微小管の滑り速度

A、ダイニンcとeの混合比に対する微小管滑り速度変化。点線はダイニンc単独で表面密度を変えたときの微小管滑り速度。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及びダイニンgとダイニンeとの混合比1:1の時の微小管滑り速度。図8とダイニンc単独の滑り速度が違うが、ダイニンfとダイニンcを同時にガラス表面に吸着する条件とダイニンe及びgと同時に吸着する条件が違うため (BとCは参考文献 [22] の図を改変)。

and asymmetry in the arrangement of dynein and related structures in the *Chlamydomonas* axoneme,” *J. Cell Biol.*, vol.198, pp.913–25, 2012.

- 9 C. Shingyoji, A. Murakami, and K. Takahashi, “Local reactivation of Triton-extracted flagella by iontophoretic application of ATP,” *Nature*, vol.265, pp.269–270, 1977.
- 10 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.
- 11 H. Sakakibara and K. Oiwa, “Molecular organization and force-generating mechanism of dynein,” *FEBS Journal*, vol.278, Issue 17, pp.2964–2979, 2011.
- 12 K. Ishibashi, H. Sakakibara, and K. Oiwa, “Force-generating mechanism of axonemal dynein in solo and ensemble,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol.21, p.2843, 2020.
- 13 K. Oiwa, H. Sakakibara, and K. Furuta, “Electron microscopy of isolated dynein complexes and the power stroke mechanism,” in *Dyneins 2nd edition*, Academic Press, ed. by S. M. King, pp.2–35, 2018.
- 14 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.
- 15 M. Sakato, H. Sakakibara, and S. M. King, “*Chlamydomonas* outer arm dynein alters conformation in response to Ca^{2+} ,” *Mol. Biol. Cell.*, vol.18, no.9, pp.3620–34, 2007.
- 16 H. Sakakibara, S. Takada, SM King, GB Witman, and R Kamiya, “A

- Chlamydomonas outer arm dynein mutant with a truncated beta heavy chain,” J. Cell Biol. vol.122, no.3, pp.653–661, 1993.
- 17 Z. Liu, H. Takazaki, Y. Nakazawa, M. Sakato, T. Yagi, T. Yasunaga, S. M King, and R. Kamiya, “Partially functional outer-arm dynein in a novel Chlamydomonas mutant expressing a truncated gamma heavy chain,” Eukaryot Cell, vol.7, pp.1136–1145, 2008.
 - 18 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.
 - 19 H. Sakakibara, H. Kojima, Y. Sakai, E. Katayama, and K. Oiwa, “Inner-arm dynein c of Chlamydomonas flagella is a single-headed processive motor,” Nature, vol.400, pp.586–590, 1999.
 - 20 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.
 - 21 Y. Shimizu, H. Sakakibara, H. Kojima, and K. Oiwa, “Slow axonemal dynein e facilitates the motility of faster dynein c,” Biophys. J., vol.106, pp.2157–2165, 2014.

榑原 斉 (さかきばら ひとし)

未来 ICT 研究所
主任研究員
理学博士
タンパク質モーターの生物物理