【研究区分：先端的研究】

研究テーマ：緑藻クラミドモナスを用いたヒト繊毛病原因遺伝子産物の機能解析	
研究代表者：生物資源科学部 生命環境学科 生命科学コース 教授 八木俊樹	連絡先：yagit@ed.pu-hiroshima.ac.jp
共同研究者：なし	

【研究概要】
繊毛運動を駆動する微小管モータータンパク質・ダイニンは重鎖，中間鎖，軽鎖からなる。軽鎖 LC1 はモーター活性をもつ重鎖の微小管結合部位と直接相互作用することから，ダイニンの活性調節因子として機能する可能性が指摘されている。本研究では，緑藻クラミドモナスの LC1 欠失株を新たに単離し，その遊泳速度が野生株より低下することを明らかにした。この結果は，LC1 がダイニンの活性制御に直接寄与することを示し，LC1 遺伝子の変異が原因となるヒト繊毛病の病態解明に寄与するものである。

【研究内容・成果】

１．研究内容

繊毛に屈曲運動が発生する仕組みを理解するために，微小管モータータンパク質・ダイニンの活性調節機構を調べた。繊毛ダイニンは，重鎖，中間鎖，軽鎖からなる。重鎖は ATP の分解活性と微小管滑り運動活性をもつ頭部と，分子本体の繊毛内位置を決める尾部の２つの領域からなる。中間鎖，軽鎖の多くは尾部に結合するが，頭部に結合する珍しい軽鎖 LC1 も存在する。私たちは，この軽鎖が外腕ダイニン（α β γの３本の重鎖をもつ）のγ重鎖頭部から飛び出す棒状構造（ストーク）先端部（MTBD）に局在することをすでに示している（図１）。MTBD は微小管と ATP 依存的に結合する重要部位であり，LC1 はその微小管結合性を制御する可能性が高い。本研究では，LC1 を欠失したクラミドモナス変異株を用いて，LC1 の機能を調べた。

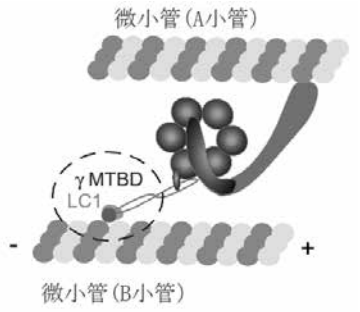

図 1. 外腕ダイニンγ重鎖のストークに結合する LC1 の模式図.
2 連微小管の A 小管に固定される重鎖はストーク MTBD で隣の 2連微小管の B 小管と結合する。

２．研究成果

クラミドモナス遺伝子破壊株ライブラリーから LC1 遺伝子の破壊株を新たに単離した。その運動性を解析したところ，LC1 欠失株は野生株とγ重鎖部分欠損株の中間の速度になること，また，遊泳軌跡の真直性が低下することがわかった。このことから，LC1 の欠失によりγ鎖のモーター活性が低下することが示された。

ごく最近，クライオ電子顕微鏡構造解析から，２本の繊毛微小管上に規則正しく配置された外腕ダイニンの詳細構造が明らかにされた（Rao et al., 2021）。それによると， LC1 は微小管に直接結合してダイニン・微小管の結合を補強する可能性が示されている（図２）。一方，われわれはこれまでに，LC1 がスト―ク MTBD の FLAP と呼ばれるループ構造に結合していることを示している（図３A）。FLAP は，繊毛内腕ダイニンにおいて，MTBD から伸び出すループ構造として知られており（図３B），そこで微小管と結合することが明らかにされている。つまり，MTBD ストークに FLAP をもつダイニンは MTBD と FLAP の２カ所で微小管と結合している。γ重鎖のストーク組み換えタンパク質を用いて，ストークと微小管

との結合性が LC1 の存在によって変化しないか調べたところ，その微小管結合性は LC1 存在下に，むしろ低下することがわかった。微小管との結合を補強するはずの FLAP を，LC1 はわざわざマスクして，そのかわりに自分自身が微小管に結合して相互作用を弱めるように見える（図２）。これは何を意味するのだろうか？

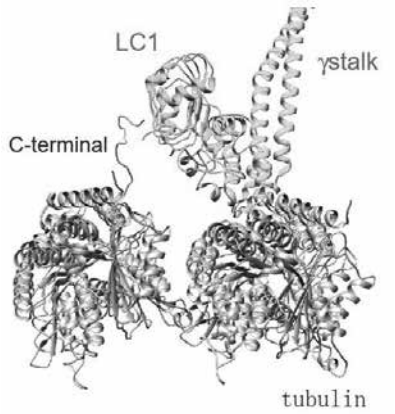

図 2. 微小管に結合するダイニン重鎖ストークと LC1 複合体
LC1 はγストークが結合する分子の隣のチューブリン分子に結合する（Rao et al., 2021 改変）。

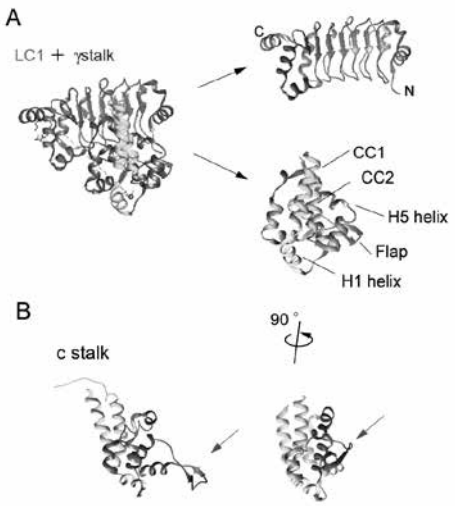

図 3. ダイニン MTBD と LC1
(A) LC1 とダイニン外腕γ鎖微小管結合部位 (MTBD) の結晶構造 (Toda et al., 2020)
(B) 内腕ダイニン c および外腕ダイニンγ鎖の MTBD Flap 構造の違い

LC1 はγ重鎖の微小管結合性を制御する可能性が考えられる。LC1 によるダイニンのモーター活性変化を直接調べれば，その制御機構を明らかにできるはずである。今後，LC1 を結合したダイニンと結合していないダイニンそれぞれを精製し，それらの微小管モーター活性を比較する実験を行えば，その制御機構の概要が明らかになると考える。

LC1 遺伝子の点変異によって生じるヒト繊毛病が知られている。その患者は，運動性繊毛の機能が低下し，慢性気管支炎を発症する（Mazor et al., 2011）。この患者の気管繊毛は外腕ダイニンを欠失し，繊毛運動が低下している。一方，クラミドモナスの LC1 欠失株では，繊毛打は低下するものの外腕ダイニンの構造的な欠失は見られない。LC1 変異が両者で一見異なることは，生物間の違いを反映していると考えられるが，LC1 にはダイニンの機能制御だけでなく，繊毛への輸送と配置，ダイニン分子の構築にも寄与する可能性も示している。今後は，変異型 LC1 をもつクラミドモナス細胞の繊毛の構築と運動性を解析し，LC1 変異によるヒト繊毛病の原因解明をより一層進めて行きたい。

疾患の病因が解明できれば，次に必要になることはその治療法の開発である。遺伝病の治療は、究極的には遺伝子治療（遺伝子改変）へと進むはずであるが，倫理的な問題が多く実現には高い壁がある。私たちはこれまでに、ダイニンの活性を圧力、薬剤で変調させられることを示している（Yagi and Nishiyama, 2020, Yagi and Kamiya, 2000）。その経験と遺伝子改変マウスを用いた研究を組みあわせれば，変異型軽鎖によるダイニン活性の調整異常を正常に近づける方法を開発できる可能性もある。今後は，そのような方向性の研究も展開していきたい。