

Basal body の「9」の謎を解く

中澤 友紀, 平木 まどか, 神谷 律, 廣野 雅文
(東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻)

Mechanism for establishing the “nine-ness” of the basal body

Yuki NAKAZAWA, Madoka HIRAKI, Ritsu KAMIYA and Masafumi HIRONO
(Department of Biological Sciences, University of Tokyo)

SUMMARY

Basal bodies have a highly conserved structure, consisting of nine triplet microtubules arranged in a rotational symmetry. How this arrangement is determined is poorly understood. By analyzing two *Chlamydomonas* mutants, *bld10* and *bld12*, we found that the cartwheel, a structure with a hub and nine radiating spokes, is crucial for stabilizing the 9-fold symmetry. The mutant, *bld10*, has a null mutation in a coiled-coil protein, Bld10p, that localizes to the cartwheel, and totally lacks basal bodies. Intriguingly, when a truncated Bld10p is expressed in *bld10*, basal bodies with eight triplets are frequently assembled. From the morphology of the cartwheel spoke in the abnormal basal body, we conclude that Bld10p is a major component of the spoke tip, and that the eight-triplet basal bodies are formed because the diameter of the cartwheel becomes smaller by truncation. The other mutant, *bld12*, frequently has basal bodies with abnormal triplet numbers, varying from 7 to 11. *BLD12* codes for a homolog of SAS-6, a protein essential for centriole formation in *C. elegans*. Evidence suggests that *Chlamydomonas* SAS-6 functions in arranging the radial array of the cartwheel spokes as a component of the central part of the cartwheel. The cartwheel must be crucial for stable formation of the 9-fold symmetrical structure of the basal body.

[目的] Basal bodyは繊毛の形成基部として働くオルガネラで、多くの生物では中心体の中核構造としても機能する。また、細胞周期ごとに自己複製するという不思議な性質を持つ。Basal bodyは9本の短いトリプレット微小管が回転対称に配置した円筒状構造を持ち、この基本構造パターンはほとんどすべての真核生物に共通する。このことから、この9回対称性構造は10億年以上前に真核生物が獲得した最初の形質であり、それが現在まで変わらずに保持されてきたと考えられている。しかし、この特徴的な構造がどのようにしてできるのか、微小管数の「9」という数を決めているものは何かといった問題は、古くから興味を持たれてきたにも関わらず、これまでまったく手がかりがなかった。

この分子機構に迫るため、クラミドモナスを用いた遺伝学的アプローチを試みた。鞭毛の形成に異常をもつ突然変異株の中からbasal bodyに異常をもつものを選び出す、という戦略で変異株の単離を行ったところ、いくつかの変異株の単離に成功した。そのうちの2株の解析からbasal bodyの9回対称性が確立される機構の一端を、世界で初めて明らかにすることに成功した。

[方法]

Basal body突然変異株の単離

鞭毛を形成しない変異株70株について、SYBR GREENでDNAを染色し、細胞あたりの核の数が異常な株を9株選び出した。これらの細胞を電子顕微鏡

で観察し、basal bodyの構造に異常をもつ2株を*bld10*, *bld12*と名付けた。

変異遺伝子の同定

変異株*bld10*は、ゲノム中にプラスミドを挿入することによって変異誘導された株である。このプラスミドを指標として挿入箇所のゲノム配列を同定し、その近傍領域にある遺伝子の中から、*bld10*変異株に導入したときに表現型回復能をもつ遺伝子を同定し、*BLD10*遺伝子とした。*BLD12*遺伝子は、ポジショナルクローニングによって同定した。AFLPマッピングにより変異遺伝子座を同定し、その領域にある遺伝子を調べた。候補遺伝子のcDNA配列を決定して変異遺伝子を同定した。

[結果と考察] *bld10*はbasal bodyを完全に欠失しており、哺乳動物で同定された中心体蛋白質Cep135に相同なコイルドコイル蛋白質Bld10pのnull変異株である。我々の以前の研究により、この蛋白質はbasal body内腔にあるカートホイールという構造に局在することがわかっていた¹⁾。この構造は中央の環状構造(ハブ)から9本の細い繊維(スポーク)が放射状に伸びた形をしており、basal body形成過程で最初に現れる9回対称性構造である。Bld10pの機能を探るため、配列の一部を欠損したBld10pを*bld10*細胞に発現させたところ、興味深いことに、8本の微小管からなるbasal bodyが高い頻度で形成されることがわかった。このときカートホイールはスポークの先端部分が細く短くなって微小管から外れていた。この結果

は、Bld10pがスポーク先端の構成成分として微小管形成に働くことを示唆する。8本の微小管からなるbasal bodyが形成されたのは、小さくなったカートホイールの円周上に微小管が8本しか並べなくなったためだと考えられる²⁾。

*bld12*はbasal bodyの微小管数が7から11本まで揺らぐという異常を示す変異株である。Basal body構造を詳しく観察すると、この異常の原因はカートホイールの中央部分が欠失しているためであった。変異によってスポークが放射状に配置されないと、微小管形成の場が9個所に固定されず、8本や10本の微小管からなる中心子が形成されるらしい。遺伝子解析の結果、*bld12*はSAS-6という蛋白質を欠失することがわかった。SAS-6は線虫やヒトの細胞でbasal body形成に必須な蛋白質として同定されていたが、どのように機能するかはわかっていなかった。今回の研究によって初めて、SAS-6はカートホイールのスポー

クを放射状に配置する機能を持ち、カートホイール形成を通してbasal bodyの9回対称性の安定化に働くことが明らかとなった³⁾。

以上の2つの変異株を使った研究により、basal bodyの9回対称性構造の構築には、カートホイール依存的な機構が働いていることが明らかになった。このようなbasal body構築の分子機構が明らかになったのはこれが初めてである。

[文献]

- 1) Matsuura, K., Lefebvre, P. A., Kamiya, R., and Hirono, M. (2004) *J. Cell Biol.* 165, 663-671.
- 2) Hiraki, M., Nakazawa, Y., Kamiya, R., and Hirono, M. (2007) *Curr. Biol.* 17, 1778-1783.
- 3) Nakazawa, Y., Hiraki, M., Kamiya, R., and Hirono, M. (2007) *Curr. Biol.* 17, 2169-2174.