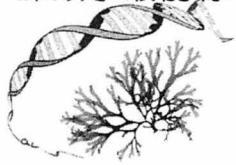


## 藻類学最前線



## 長里千香子：新規チューブリンの存在と微小管構造について

細胞周期や、生活環の進行による細胞形態の変化には、細胞骨格とよばれる微小管のダイナミックな変化が見取れる。微小管とは、全ての真核細胞の細胞骨格として存在する線維状構造で、細胞内にネットワークを張りめぐらせ、細胞の生命活動の状態によってしなやかに変化する構造である。勿論、藻類細胞にも例外なく存在し、細胞の生命活動が秩序だてて行われるよう役買っている。微小管の主な働きは、(1)細胞の形づくりに関わる、(2)細胞分裂、減数分裂時の紡錘糸として染色体の分離に関わる、(3)オルガネラの細胞内配置や物質輸送に関わる、(4)鞭毛運動に関わる、など生物機能の多岐にわたっている。

本稿は、微小管を構成している主要タンパク質、チューブリンについて、特に、クラミドモナスで発見された新規チューブリンの存在に端を発し、最近、次々に報告されている新規チューブリンとその働きについて紹介する。

1)  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ チューブリンの発見

1968年に微小管の主要タンパク質が分子量55kDaの $\alpha$ （アルファ）チューブリンと $\beta$ （ベータ）チューブリンであることが生化学的手法により明らかにされた<sup>(1,2)</sup>。微小管はこの $\alpha$ と $\beta$ チューブリンのヘテロダイマー（二量体）によって構成されたプロトフィラメントが13本平行に束ねられてできている管状構造であり、細胞内ネットワーク、紡錘糸等を形成する細胞質性微小管（シングレット）、鞭毛運動を司る鞭毛軸系（ダブルット）や鞭毛基底小体・セントリオール（トリプレット）といった構造の基本単位であることがわかっている（図1）。これら3種の微小管は、基本構造は同じではあるが、細胞質性微小管と比較して、後者の2種は微小管の脱重合に関わるような低温・カルシウム処理・コルヒチン等の薬剤処理に対する耐性を持つことから、非常に安定した構造をとっているといわれている。

1989年、第三のチューブリン、 $\gamma$ （ガンマ）チューブリンが遺伝学的手法により *Aspergillus*（コウジカビ）から単離された<sup>(3)</sup>。現在、 $\gamma$ チューブリンは、ほ乳類・陸上植物・原生生物など真核細胞において広く調べられ、 $\alpha$ ,  $\beta$ チューブリンと共に、ほぼ全ての真核細胞に存在すると考えられている。 $\gamma$ チューブリンは微小管内部を構成しているのではなく、微小管重合のイニシエーターとして働くといわれている。プロトフィラメントは同じ極性で平行に並んでいるので、微小管自体にも極性があり、速く伸長するプラス端とゆっくり伸長するマイナス端に区別される。プラス端は、紡錘体極のような微小管が発達する中心とは反対側の領域に当たるが、 $\gamma$ チューブリンは数種の他のタンパク質とともにコンプレックスを形成し、微小管のマイナス端、つまり微小管が発達している紡錘体極等の周辺に局在している。最近では細胞質性微

小管のみならず、鞭毛基底小体の複製にも関わっているという報告もある。

$\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ チューブリンは、生物間で非常にホモロジーが高い。相補DNA（cDNA）配列から推定されるアミノ酸で比較すると、 $\alpha$ チューブリン、もしくは $\beta$ チューブリンは生物間で60%以上ものアミノ酸が一致しており、 $\alpha$ および $\beta$ チューブリン間では40%程のアミノ酸が一致する。 $\gamma$ チューブリンも生物間で非常にホモロジーが高く、 $\alpha$ および $\beta$ チューブリンとは30%前後のアミノ酸が同一で、分子量はほとんど変わらない。一般的に、多細胞生物では $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ チューブリン遺伝子は複数個存在し、単細胞生物では単一あるいは2コピー存在することが知られている。

2) クラミドモナスの鞭毛変異株から単離された新規チューブリン<sup>(4)</sup>

1998年、クラミドモナスの鞭毛変異株（クラミドモナスは通常二本鞭毛が存在するが、1本しかない）から、 $\delta$ （デルタ）チューブリンが単離された。cDNAから推測するとこの遺伝子産物は532アミノ酸からなり、分子量が55.8kDaになる。チューブリンモチーフと言われるGGTG配列をもち、既に報告されているクラミドモナスの $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ チューブリンのアミ

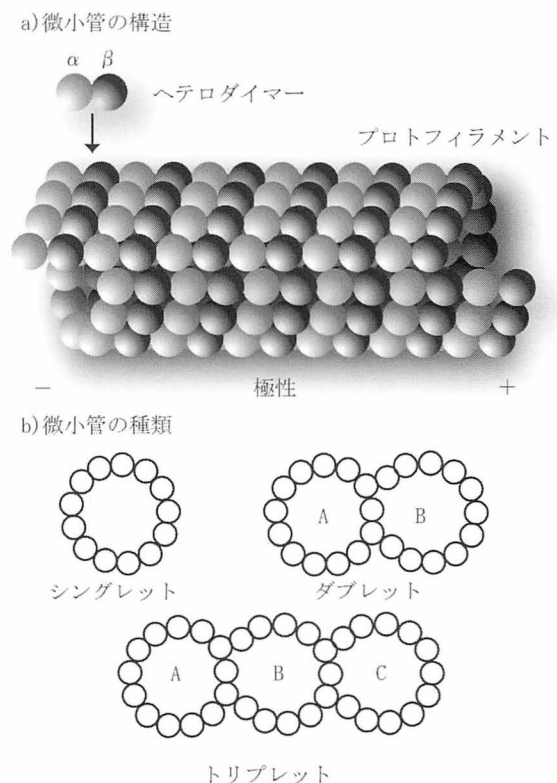


図1. 微小管の構造と種類.

α tubulin	M-REVISIHIGOAGIOVGNACWELYCLEHGIQDPGQMPDKTIGGGDDAFNTFFSETGAGKHVPRCIFLDLEPTVVDEVTRGTYRQ----LFHPEQLISG	100
β tubulin	M-REIVHIOGGGCGNOIGAKFWVVSDEHGIDPTGTYHGSDL--QLERINVVFNEATGGRVYVPRAILMDLEPGTMDSVRSRGGPYGQ----IFRPDNFVFG	
γ tubulin	MPREIINLOVGGCNOVGGSEFWRKLCEHGIKADGRLEDFATLGG--DRKDVFFYQADDEQYIPRAILLDLEPRVINGIOTSDLRN----LFPENIFIS	
δ tubulin	MP--CITLQLGQCNGQLGCSLFNTLATEFSSHDYG--TDAVH-----EYFRPSADPNLYTARSVLIDMEPKVAVAGARSAAAASGSWWRYPSSGGLVM	
α tubulin	KE--DAANNFARGHYTIKGEIVDLALDRIRKLDNCTGLOGFLVFNVAVG <b>GGT</b> GSGLSLLERLSVDYGGKSKLGFVYPS-PQVSTAVVEPYNSVLSTH	200
β tubulin	QT--GAGNNWAKGHYTEGAELIDSVLDVVRKEAESCDCLGFOVCHSLG <b>GGT</b> GSMTLLISKIREEYPDRMMLTFVSVPS-PKVS DTVVEPYNATLSVH	
γ tubulin	KEGGGAGNNWASG-YTQGEAVQETLLDMIDREAEYCDSELEGFNMCHSIAG <b>GGT</b> SGMGSYMLELISDRYSKLLIQYTSVFPNQSESSDVVVOPYNLSLTLK	
δ tubulin	QS--GSNNWAQGFHGYGQVHEDALDLVRKEVEHADSLTGFLLLQSM <b>GGT</b> GAGLGTVVAEALRDEYHSFAVANCWVWY--ESGEVIVQPYNTLLTLS	
α tubulin	SLEHTDVAVMLDNEAIYDICRRSLDIERPTY-----	300
β tubulin	QLVENADECMVLDNEALYDICFRTLKLTPTF-----	
γ tubulin	RLLHADAVVLDNTALDKIAVERLHLHKPDV-----	
δ tubulin	HLADVSDGLVLENEALHRTAAKLYGIARPSFGDMNGIAARALAAALLPSQPRGPYAGGAYVAPASQHHHHQAHGHGAGPGRSSPGSSGGVQLPALR	
α tubulin	-----	400
β tubulin	-----	
γ tubulin	-----	
δ tubulin	RADSSGGRLGGESPLGSLGSRGGGATPPHAAASSPSASAGSGSGGWVCTAPLAEVLVTRLCGHPAYRLLTLRSVPQLPPANI DFTTF-----	
α tubulin	-SLTASLRFDGALNVDITFEQTNLVYPRIHEMLSSYAPIISA EKA--YHEQLSV-AEITNAAFEPASMMVKCDPR-----HGKYMACCLMYRGDVVP	500
β tubulin	-GITCCLRFPGQLNADLRKLA VNLIPFRLHFFMVGFPTLTSRGSQQ---YRALTVPELTQQMWDAKNMCAADPR-----HGRYLTA SALFRGRMST	
γ tubulin	AS-TTTLRYPGYMNNDLVGLVASLIPTPRCHFMTGYTPLTAENAAQ---VTSNIRKTTVLDVMRLLQPKNIMVSTHTKSRDIA-NAKYISILNI IQG	
δ tubulin	-----TWPALTKRLRQMLVTGSVLEEGLDWSITPQSPGAAAALGAGLAGPTVNR	
α tubulin	KDVNASVATIKTKRTIQ---FVDWCPTGFKCGINYPPTVPGDGLAKVQRAVCMISNSTAIGEIFSRLDHKFDLMYAKRA FVHWYVGEEMEEGEFSEA	600
β tubulin	KEVDEQMLNVQKNSSY---FVEWLENNVKSVCIDIPKG-----LKMSATFIGNSTAIQEMFKRVSEQFTAMFRRKAFHLHWYTGEGMDEMEFTEA	
γ tubulin	EVDPSQVHKS LQRIRERKQANFIEWGPASIQVALSKKSPYQTAH----RVSGMLANHTSVRHLFNKVL RDEYKLMGPKOEAOAFMQAYRDVPFADA	
δ tubulin	ALASWILIRGQGAEEA-DVGEFAD--PALSAAWSPEPLSVSYSTRFRGCAMSA CLLSNDRHCVGP IQRMQEHAYGMLESRAFVHQYKEYGLSVAEFQDC	
α tubulin	REDLALEKDFEEVGAESAEGAGEGEGEEY*	
β tubulin	ESNMNDLVSEYQQYQDASAE EEEGEFEGEEEA*	
γ tubulin	AGGGTALLEEFADAKEVVQDLANEYAACESADYIQRQMMAS*	
δ tubulin	FARIEDIAQRVARI*	

図2. クラミドモナスのα, β, γ, δチューブリンのアミノ酸配列。ギャップ (-), ストップコドン (\*). Dutcher and Trabuco 1998<sup>(4)</sup>より改変。

ノ酸とは23, 26, 27%一致する(図2)。この、新規タンパク質のN末端側の217アミノ酸はγチューブリンと類似しているが、γチューブリンのよく保存されているモチーフ(DVFFYQ, MIDREAE, VVVQPYN, VVVLND, KTTVLDVMRLL, IIQGEV)が見られない。一方、C末端側の145アミノ酸はβチューブリンの構造に類似している。内部に見られる156個のアミノ酸はα, β, γチューブリンにはなく、それに対してα, β, γチューブリンには見られるその後の50個前後におよぶアミノ酸に相当する配列がδチューブリンでは見られない。このような結果から、新規チューブリンであると結論づけられている。

クラミドモナスでのδチューブリンの報告後、EST (Expressed Sequence Tag)解析の情報からヒト<sup>(5)</sup>・マウス<sup>(6)</sup>・アフリカツメガエル・ゾウリムシ<sup>(7)</sup>・トリパノゾーマ<sup>(8)</sup>にも存在することが明らかになった。それらの配列を比較すると、既知チューブリン分子の生物間での相同性ほど高くないこと、サイズが異なることがわかった。例えば、ヒトとマウスのδチューブリンは80%の相同性があるが、クラミドモナスと比較すると40%になる。

δチューブリンの機能は今のところ、既知チューブリンほど明確にはなっていない。クラミドモナスの鞭毛変異株を電子顕微鏡で観察すると、鞭毛基底小体のトリプレット微小管のうちC管がA管、B管と比べて極端に短いことが電子顕微鏡の観察により示されている<sup>(4, 9)</sup>。また、ゾウリムシにおいては、δチューブリンの発現をおさえると、C管が発達しないことが報告されている<sup>(7)</sup>。このような報告から現在のところ、δチューブリンはトリプレット微小管の形成、構造維持

に参与しているのではないかと考えられている。

### 3) その他の新規チューブリンファミリー<sup>(10, 11)</sup>

クラミドモナスのδチューブリン同定以降、様々な生物において遺伝学的手法とDNAデータベースを使い、さら

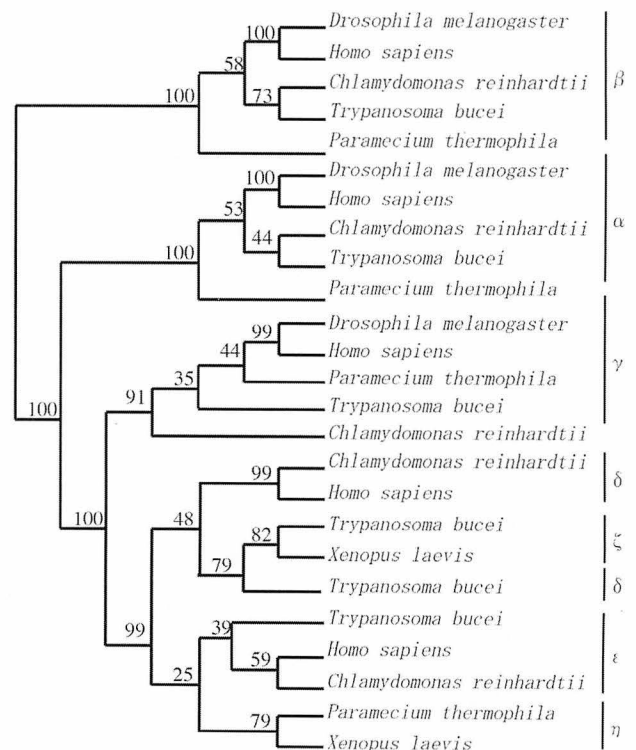


図3. チューブリン分子の系統関係(近隣結合法)。分岐点にある数字はブーストラップ確率。Dutcher 2001<sup>(11)</sup>より改変。

に数種の新規チューブリンが存在することが明らかになった。現在,  $\epsilon$  (イプシロン),  $\zeta$  (ゼータ),  $\eta$  (イータ), と  $\iota$  (イオタ) チューブリンまで報告されている。これらのチューブリンは  $\delta$  チューブリンも含めて,  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  チューブリンとは異なり, すべての真核生物に存在するとは限らない。ゲノムプロジェクトがほぼ終了している生物群, 酵母,  $\gamma$  チューブリンが最初に発見された *Aspergillus*, シロイヌナズナ, イネでは現在のところほぼ存在しないであろうと結論されている。これらの新規チューブリンはまだ発見されて間もないため, その細胞内局在・機能は明らかになっていないが, 鞭毛基底小体・セントリオールの複製, 構造維持, 鞭毛軸糸の伸長といった機能を示唆する結果が出始めている。

#### 4) 新規チューブリン遺伝子の有無と細胞特性

なぜ,  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  チューブリンが全ての真核細胞に存在し, 生物間のホモロジーが非常に高いのに対して, 新規チューブリンは全ての真核細胞に存在しないのか?, チューブリン分子はどのように進化していったのか(図3)?, 特に新規チューブリンに対しては, 調べられている生物種がまだ少ないため一概には言いがたい。しかしながら, 新規チューブリンの有無は, 細胞の運動性を司る鞭毛軸糸(ダブルレット), 鞭毛基底小体・セントリオール(トリプレット)といった微小管構造の有無と一致しそうである。今後, より多くの生物種で調べ

られ, 各生物種における新規チューブリンの局在・機能が明らかにされていくことにより, 今まで, 不説明のままだった真核細胞におけるオルガネラ, 鞭毛軸糸・鞭毛基底小体の起源, 複製機構, 構造維持機構といった様々な問題に対して, 解明の糸口がつかめるのではないかと期待される。

#### 参考文献

- (1) Mohri, H. 1968. *Nature* 217: 1053-1054.
- (2) Weienberg, R.C., Borisy, G.G. & Taylor, E. W. 1968. *Biochemistry* 7: 4466-4479.
- (3) Oakley, C.E. & Oakley, B.R. 1989. *Nature* 338: 662-664.
- (4) Dutcher, S.K. & Trabuco, E.C. 1998. *Mol. Biol. Cell* 9: 1293-1308.
- (5) Chang, P. & Stearns, T. 2000. *Nat. Cell Biol.* 2: 30-35.
- (6) Smrzka, O.W., Delgehyr, N. & Bornens, M. 2000. *Curr. Biol.* 10: 413-416.
- (7) Ruiz, F., Krzywicka, A., Klotz, C., Keller, A., Cohen, J., Koll, F., Balavoine, G. & Beisson, J. 2000. *Curr. Biol.* 10: 1451-1454.
- (8) Vaughn, S., Attwood, T., Navarro, M., Scott, V., McKean, P. & Gull, K. 2000. *Curr. Biol.* 10: R258-R259.
- (9) O'Toole, E.T., Giddings, T.H., McIntosh, J.R. & Dutcher, S.K. 2003. *Mol. Biol. Cell.* 14: 2999-3012.
- (10) Oakley, B.R. 2000. *Trends Cell Biol* 10: 537-542.
- (11) Dutcher, S.K. 2001. *Curr. Opin. Cell. Biol.* 13: 49-54.

(北海道大学北方生物圏フィールド科学センター)

