

チューブリン遺伝子破壊株による微小管機能の 順遺伝学・逆遺伝学的研究

はじめに

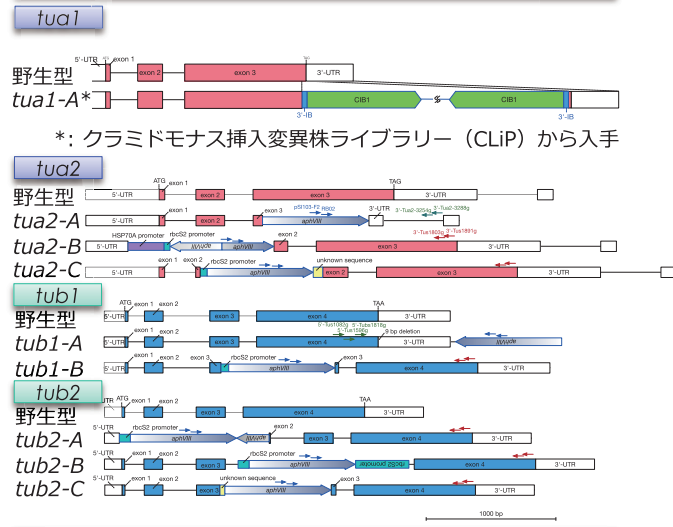
微小管はαおよびβ-チューブリンのヘテロダイマーが規則的に配列した管状重合体である。微小管の阻害剤は細胞分裂を抑制するので、抗がん剤として広く用いられる。また、チューブリン遺伝子の異常と、がんやてんかん、脳症との関連も指摘されている。したがって、これらの疾病のメカニズムの解明や新たな抗がん剤開発のために、チューブリンの分子構造と機能に関する基礎的知見の獲得が本質的に重要である。

緑藻クラミドモナスは微小管研究に適したモデル生物である。ただし、この生物には互いに冗長性のあるαおよびβ-チューブリン遺伝子が2つずつ存在する。そこで申請者らは、薬剤耐性遺伝子の発現カセットをゲノム内にランダムに挿入した約8,000の変異株ライブラリーをスクリーニングし、各チューブリン遺伝子が破壊された株を8株獲得した。本研究ではさらに、これらの破壊株を親株として多数の新規チューブリンミスセンス変異株を単離し、その特性を調べた。

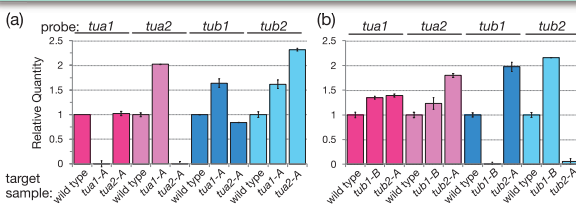
(1) チューブリン遺伝子破壊株の同定

クラミドモナスの4つのチューブリン遺伝子のうち、*tua2*、*tub1*、*tub2*の破壊株計8株を同定した。

野生株及びチューブリン遺伝子破壊株の チューブリン遺伝子の構造



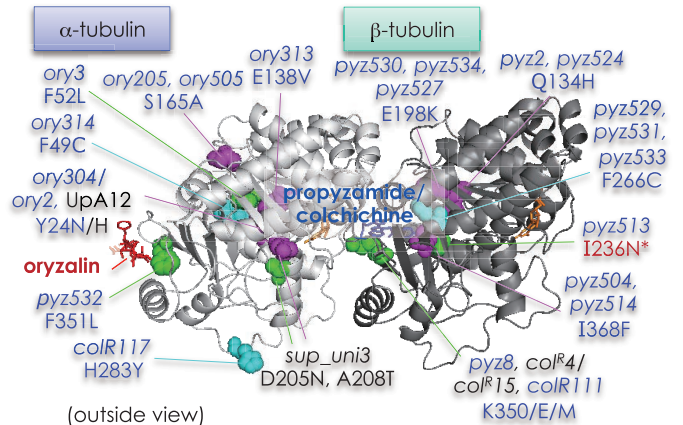
チューブリン遺伝子破壊株では、
残存するチューブリン遺伝子の発現量が上昇する。



研究代表者 箕浦 高子 研究員

(2) チューブリン遺伝子破壊株を親株とする チューブリンミスセンス変異株の獲得

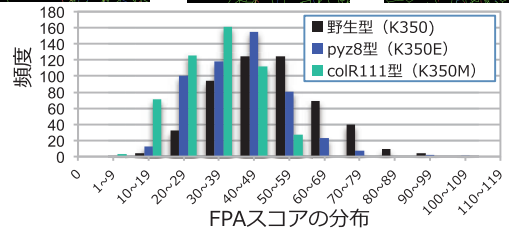
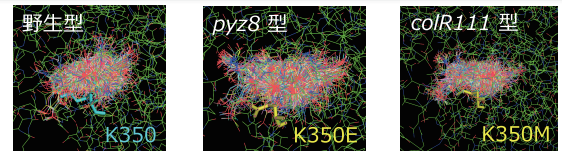
チューブリン重合阻害剤オリザリン、プロピザミド、コルヒチンに耐性を示す株をスクリーニングし、計22株のチューブリンミスセンス変異株を同定した。



青字：新規獲得変異株

*: ある種の抗がん剤に耐性を示すヒトがん細胞で見られる変異

(3) 結合低分子化合物探索ソフト ChooseLDを用いた コルヒチン結合のシミュレーション



K350位近傍におけるコルヒチンの結合力を求めた。*pyz8*型変異 (K350E) や*colR111*型変異 (K350M) では、FPAスコア(Finger print alignment score)が野生型よりも低く、コルヒチンとの結合力が小さいことが示唆される。これらの変異株はいずれも強いコルヒチン・プロピザミド耐性を示すことから、K350位のアミノ酸置換により薬剤との結合能を失ったことで耐性を獲得した可能性がある。

共同研究者

岩館 満雄 (研究員、理工学部准教授)

荻原 由太郎 (準研究員、理工学研究科生命科学専攻2020年卒業)

伊藤 あゆみ、小林碧海、田口万梨乃 (理工学部生命科学専攻2020年卒業)

神谷 律 (客員研究員、理工学部共同研究員)