

ナノ計測・分析領域における支援成果

気管多線毛の基底小体構築の三次元的解析

<sup>a</sup>大阪大学大学院 生命機能研究科

国本晃司<sup>a</sup>, 月田早智子<sup>a</sup>

【研究目的】

気管などの多線毛細胞において、その各線毛の根元の構造は基底小体と呼ばれるが、細胞分裂に関わる中心体とほぼ同じような構造をしていることが知られている。我々の研究室では以前、outer dense fiber 2 (Odf2) タンパク質が中心体の特徴的な突起構造に局在していることを明らかにした(Nakagawa *et al.*, 2001; Mol Biol Cell)。さらに、Odf2を完全に欠失した細胞では中心体の突起構造が欠損しており、一次線毛が生えないことを明らかにした(Ishikawa *et al.*, 2005; Nat Cell Biol)。個体レベルでのOdf2の機能を明らかにするためOdf2変異マウスを作成したが、その気管では通常に見られる一方方向性の線毛運動が完全にランダムであることが判明した。このマウスは咳、くしゃみ発作を繰り返したが、病原体などを線毛運動により除去できないための代償的な防御反応と考えられた。線毛根元の基底小体に付着する突起構造 (basal foot) が線毛運動の方向性に関連することは知られていたが、basal footの機能など詳細は明らかではなかった。Odf2変異マウスの病態解析においてbasal footの全体的な評価は必要不可欠であり、超高圧電子顕微鏡による三次元構造解析を行った。

【成果】

超高圧電子顕微鏡による三次元解析により、Odf2変異マウスでは線毛根元の方向性を示す特徴的なbasal footが完全に消失しているため、線毛運動の方向性が保てないことが分かった(図1)。野生型マウスにおいては、basal footの詳細な構造を明らかにできた。さらに、basal foot先端に結合する微小管も明瞭に描出された(図2)。野生型マウス気管の線毛細胞膜直下には規則正しく配列された微小管ネットワークが存在し、それが規則正しくbasal footの先端に結合し維持されていることが分かった。変異マウスではbasal footが消失しているため、微小管のネットワークも完全に崩壊し、基底小体の位置、距離、方向などの平面極性が障害されていることが分かった。今回の超高圧電顕トモグラフィーによる解析により、basal footの構造的な評価、また微小管の結合、ネットワークの維持と基底小体の極性という機能的な側面までも包括した極めて重要な解析結果を得ることが出来た(Kunimoto *et al.*, 2012; Cell)。

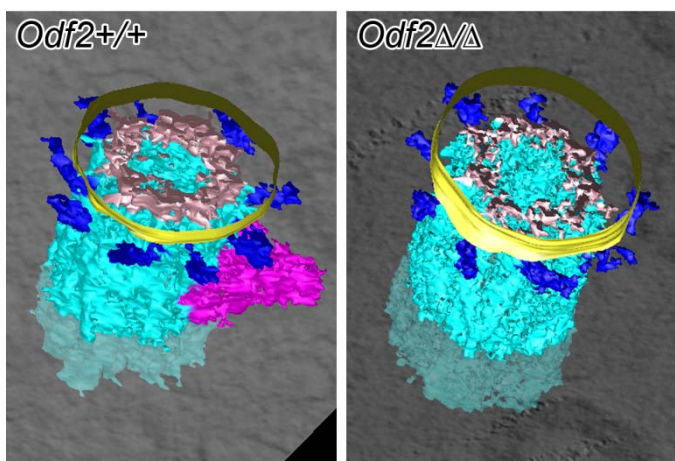


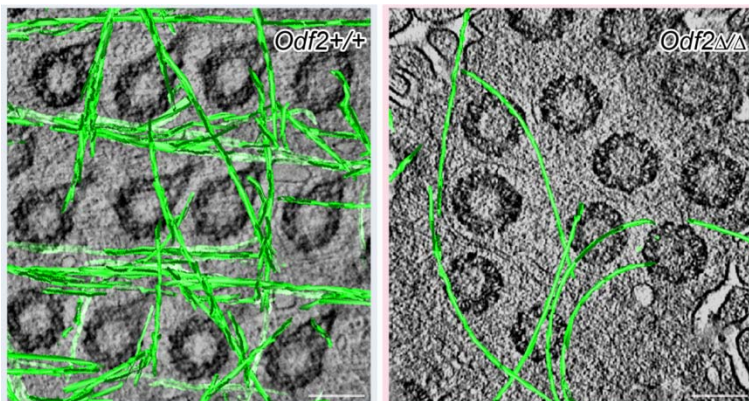
図1 超高圧電顕トモグラフィーによる気管線毛基底小体の三次元構成像。

水色:基底小体、ピンク色:basal foot (突起)、青色:基底小体の膜結合部、黄色:線毛膜、桃銀色:線毛内微小管

**Odf2Δ/Δマウスではbasal foot(突起)のみが完全に消失していた。**

図2 気管線毛細胞の微小管ネットワークの評価 (上段)

超高圧電顕トモグラフィーによる気管線毛細胞の微小管ネットワークの描出画像。基底小体の横断面が見えている。Odf2Δ/Δマウスでは微小管のネットワークが崩壊しており、基底小体の配向もばらばらである。緑:微小管 Bar, 200 nm.



下段)

Odf2+/+マウスでは basal foot (突起)の先端に微小管が結合している。Odf2Δ/Δマウスではbasal foot (突起)が消失しているため微小管が結合出来ない。黄色矢印:微小管。Bar, 100 nm.

