

## 中央大学特定課題研究費 ー研究報告書ー

所属	理工学部	身分	教授
氏名	箕浦 高子		
NAME	Kato-Minoura, Takako		

中央大学特定課題研究費による研究期間終了に伴い、中央大学学内研究費助成規程第15条に基づき、下記の通りご報告致します。

## 1. 研究課題

(和文) クラミドモナスの遺伝子破壊株を用いたチューブリンホメオスタシスの研究

(英文) Studies on tubulin homeostasis using *Chlamydomonas* tubulin-gene disruptants

## 2. 研究期間

2022年度 ~ 2023年度

## 3. 研究の概要 (背景・目的・研究計画・内容および成果 和文 600字程度、英文 50word程度)

(和文) 微小管を構成する $\alpha$ 、 $\beta$ チューブリンの細胞内量を適正に維持するチューブリンホメオスタシスは、すべての真核生物の生死に関わる重要な機構だが、その詳細は未だ不明である。本研究では $\alpha$ 、 $\beta$ チューブリン遺伝子を各2コピーしか持たないクラミドモナスをモデルに、複数の観点からこの問題に挑んだ。まず、我々が作製したチューブリン遺伝子数の異なる複数種の株を用い、各遺伝子のベースライン mRNA 量を調べた。その結果、 $\alpha$ と $\beta$ で遺伝子数が異なる場合にそれぞれの mRNA 量を調節し、 $\alpha$ と $\beta$ の mRNA 量総量のバランスをとる、遺伝子量補償機構が存在することが判明した。また、哺乳類細胞でチューブリンの翻訳抑制に携わると報告されたタンパク質 TTC5 のクラミドモナスホモログ (CrTTC5) について、CRISPR/Cas9 を用いたノックアウトに成功した。CrTTC5-KO 株に一見して明らかな表現型はないが、チューブリンの高発現を要する繊毛再生では、野生株よりも高い活性を示し、この過程への CrTTC5 の関与が示唆された。TTC5 によるチューブリン翻訳抑制には、 $\beta$ チューブリン N 末端の数アミノ酸分の配列が必要とわかっているため、この部分を欠損させた $\beta$ 遺伝子の導入と発現も試みた。期待したレベルの発現は見られなかったものの、クラミドモナスでも、この領域の欠損がチューブリン遺伝子発現制御に影響する傍証を得た。

(英文) Tubulin homeostasis, which maintains appropriate intracellular  $\alpha$ - and  $\beta$ -tubulin levels, is critical for all eukaryotes. In this study, we tried various approaches to obtain insight into this problem, using *Chlamydomonas*, with only two copies of each  $\alpha$ - and  $\beta$ -tubulin gene. In tubulin-gene disruptants, where the copy number of  $\alpha$ - and  $\beta$ -tubulin genes are different, we found that the basal levels of total  $\alpha$  and  $\beta$  mRNAs are nearly equal. The above findings suggest that *Chlamydomonas* has a dosage compensation mechanism for tubulin genes. Furthermore, we knocked out CrTTC5, a TTC5 homolog known to repress tubulin translation in mammals, using the CRISPR/Cas9 technique. In CrTTC5-KO strains, re-flagellation activity was relatively higher than wild-type, suggesting CrTTC5's role in controlling appropriate tubulin levels in flagellar assembly.