

研究紹介 リポソームを用いたリアルタイム観察から明らかになった
第4の細胞骨格セプチンの能力

A03 班 瀧口金吾

セプチンは植物以外の全ての真核生物から見いだされ、しかも種を越えてよく保存されている蛋白質です。セプチン同士が重合することによって線維を作ることができ、細胞の形態形成・運動や細胞分裂など細胞の機能に必須なことから、セプチンはアクチン線維、微小管、中間径線維に続く第4の細胞骨格と考えられています。細胞骨格とは、重合して線維形成する蛋白質群の総称で生物に必須です。アクチン線維と微小管は古くからよく研究されています。アクチン線維は筋肉や心臓など組織器官などの運動から1個の細胞の形態形成や運動まで担っています。微小管は、例えば神経軸索内では神経伝達物質などの運搬に関与し、また真核生物の鞭毛や繊毛運動を担い、細胞が分裂する際には紡錘体を形成して染色体の均等分配に関与します。セプチンの場合も、その欠損や異常が、生物に致死を招き、神経変性、不妊症、腫瘍発生などの多くの疾患の発症進展に関与していることなど、その重要性が数多く示されてきています。それにも関わらず、セプチンの基本的な性質が不明であったため、セプチンの生体内での詳しい役割や作用機構についてはまだ分かっていませんでした。

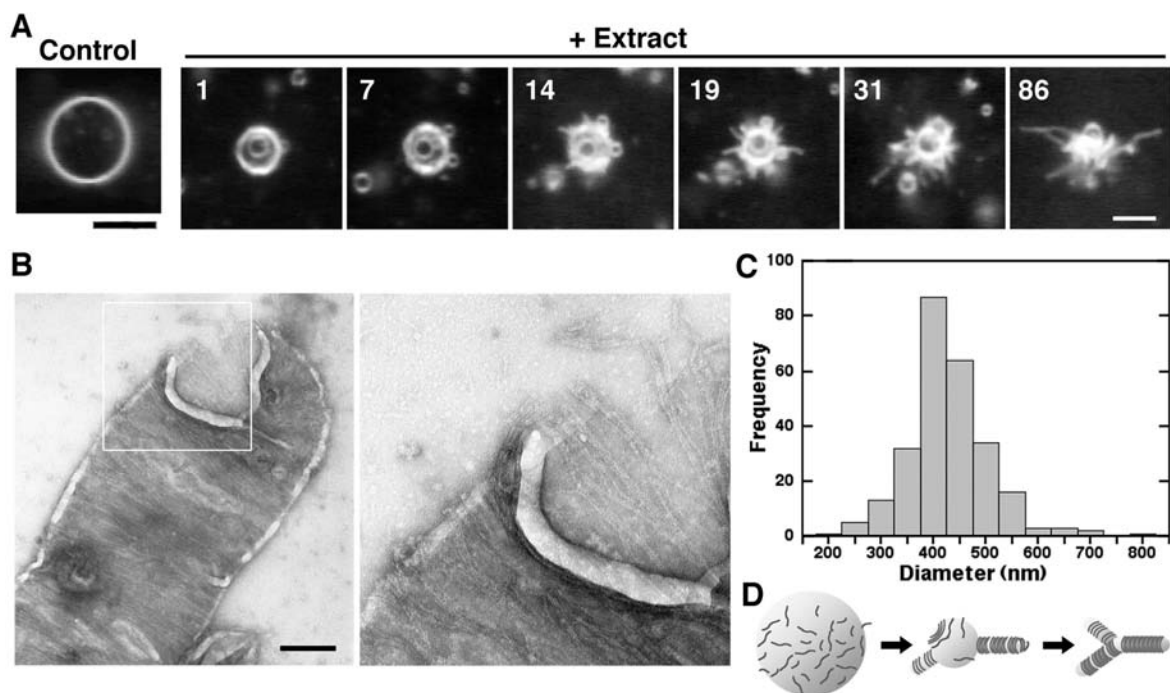


図1) セプチンによるリポソームの膜突起形成

- A、暗視野顕微鏡像。左端はセプチンを加える前の球形をしたリポソーム、右はセプチンの添加によって突起を形成伸長させるリポソーム、数字は変形開始からの経過時間（秒）。バー：10 μm 。
 B、電子顕微鏡像。突起先端部（左）とその白枠部分をさらに拡大した写真（右）。試料作成中に膜が破れた部分にもセプチン線維が残っており線維の配向が明瞭に見取れます。バー：200 nm。
 C、電子顕微鏡像から測定した膜突起部分の太さの分布、 $430 \pm 79 \text{ nm}$ (261例の平均 \pm 標準偏差)。
 D、突起形成をしたリポソームの模式図

セプチンが今まで知られている細胞骨格と異なるのは、リン脂質と結合して直接生体膜に作用できることです。実際セプチンは、細胞内の膜付近に多く局在しています。そこで私たちのグループは、ブタやラットの脳から得たセプチンを含む画分や、昆虫細胞で発現させ単離してきたセプチンを、細胞とほぼ同じサイズを持つ巨大リポソームに作用させ、リポソーム膜にどのような変化が現れるかを光学顕微鏡の一種、暗視野顕微鏡を用いてリアルタイム観察しました。その結果セプチンに膜突起を誘導する強力な活性があることを世界で初めて明らかにし、膜突起の形成伸長過程を可視化することに成功しました (図 1 A)。セプチンが突起形成を起こしたリポソームの膜上でどのような構造を作っているのかさらに調べるために、暗視野顕微鏡でリポソームの変形を前もって確認した試料を電子顕微鏡で観察したところ、セプチンは膜の表面で重合して線維を形成しており、セプチン線維は管状に伸びた膜突起の周囲を取り巻くように並んでいました (図 1 B)。しかもリポソームの膜突起部分の太さは約 400 nm と揃っており (図 1 C)、これは丁度神経シナプス形成に重要なスパイン構造や精子鞭毛の付け根部分などと同じ大きさです。今回の私たちの発見により、今まで役割や機能が明確ではなかった第 4 の細胞骨格であるセプチンが実はダイナミックで細胞膜の形態制御に直接関与していることが明らかになりました (図 1 D)。脂質二重膜の表面では、線維を形成したセプチンがさらに高度なアレイを作り、このセプチンの重合と膜の湾曲とが同時に調和して起きることによって、観察されたような膜の変形が生じることが考えられます (図 2)。

今回私たちが用いた実験系によってセプチンの活性を評価することが可能になったので、今後さらに研究を進めることでより詳しい生体膜の形態制御機構を明らかにし、セプチンが関与していると考えられている多くの疾患の発症機構を解明していきたいと考えています。

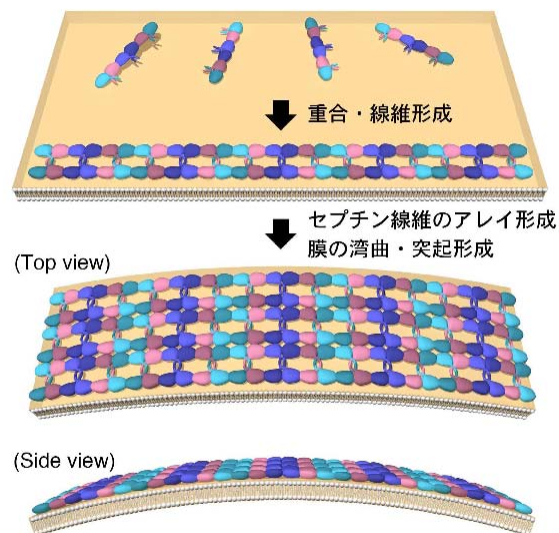


図 2) 膜表面でのセプチンの重合・線維形成・アレイ形成と膜突起形成のモデル

セプチンは 2 個のヘテロ 3 量体が繋がってできた 6 量体が基本ユニットとなって重合し線維形成をします。その側面には隣り合った線維と相互作用できる部位が突き出ていると考えられ、これによってセプチン線維同士が配向し合っアレイ形成されると考えられます。