

重合性蛋白質との相互作用による巨大リポソームの形態変化

名古屋大学大学院理学研究科・助教 瀧口 金吾
京都大学大学院医学研究科・講師 木下 専
神戸大学大学院海事科学研究科・准教授 梅田 民樹

【はじめに】

細胞骨格は、重合性蛋白質が線維やネットワークを形成したもので、細胞の形態形成や運動を担っていると考えられている。本発表では、ActoHMM（アクチン線維と HMM（分子モーターミオシンの限定分解産物）の混合体）を内部に組み込んだ場合と、第4の細胞骨格と言われる膜作用性を併せ持つセプチンを外部から作用させた場合、巨大人工膜小胞（巨大リポソーム）に各々生じる変化を観察した結果を報告する。

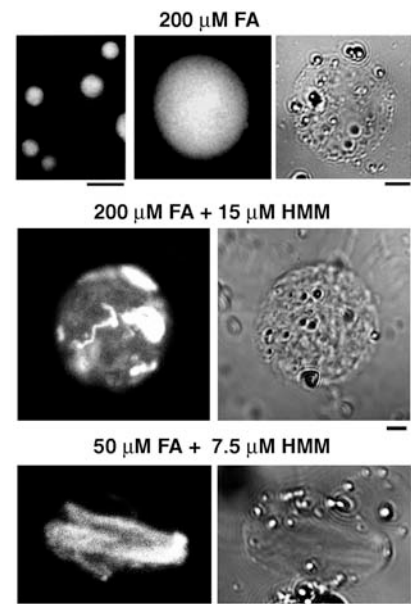
【結果と考察】

1. 内部に組込んだ ActoHMM ネットワークによるリポソームの形態変化

アクチン線維はミオシンと共に働くことにより、筋収縮にみられるように個体の運動から細胞の運動や形態変化まで、生命に必要なあらゆる力や運動の発生に関与している。現在1分子計測法の発展によってアクチンとミオシンが運動発生する機構の根本原理は解明されつつある。その一方、生体内において、いつどこでアクチンとミオシンが組織化され、どのような様式の力を供給するのか、それらの制御機構についてはまだ不明な点が多い。

その機構を解明していくための第一歩として、細胞と同じ大きさを持つ有限な空間内、例えば巨大リポソーム内でアクチンとミオシンが自己組織化して形成されてくる構造とその運動発現過程を研究することは非常に有用である（1）。しかし、今までよく用いられてきた静置水和法などの方法では、目的濃度のアクチン線維とミオシンを共封入した巨大リポソームを効率よく作成することができなかった。

本研究では、新規のリポソーム作成法である油中水滴法を利用することによってその問題を克服した（図1、バー上段左 50 μm 、その他 10 μm ）（2）。アクチン線維は HMM と共封入するとリポソーム内部でネットワークを形成して不均一に分布した（図1中段）。アクチン線維と HMM の濃度の組み合わせによっては球形以外の形態をとるリポソームも出現した（図1下段）。HMM にはアクチン線維と相互作用して滑り運動を発生する頭部と呼ばれるドメインが2個存在する。変形したリポソームは、その双頭構造によって線維を形成しているアクチンが更に架橋されてできたネットワークの力学的な安定性によって生じたものと考えられる。



2. 重合性膜作用蛋白質セプチンによるリポソームの突起形成

膜のダイナミクスが活発な脳からの抽出液またはその画分を様々な脂質組成を持つ巨大リポソームに作用させて生じる変化をリアルタイムイメージングすることによって、強力な新規膜突起誘導因子としてセプチンを同定することに成功した。(図 2A、バー 10 μm 、暗視野像、数字は秒)。

セプチンは植物以外のすべての真核生物に保存されており、ヒトでは 13 種類のセプチンが確認されている。セプチンは GTPase ドメインをもっており、また重合して線維や環状の構造を形成でき、第 4 の細胞骨格とも言われる。この

セプチンが他の細胞骨格系、アクチンや微小管と決定的に異なるのは、イノシトールリン脂質依存的に脂質二重膜と直接結合相互作用できるところにある (3、4)。

突起形成を起こしたリポソームを電顕観察したところ、セプチンは膜表面上で重合して突起の周囲を巻くように線維形成しており (図 2B、バー 200 nm、電顕像)、膜突起部分の太さは約 400 nm と揃っていた (図 2C)。セプチンは、細胞内では分裂中の細胞の分裂面や神経細胞の Exocytosis が起こっている部位など膜が活発に変形しているところに局在していることが知られているが、そこでセプチンが具体的にどのような機能を担っているかはまだ明らかになっていない。今回の我々の結果により、セプチンが膜の形態形成に積極的に関与し変形を促していることが示された (図 2D) (5)。今回の研究成果は、リポソームの変形過程を直接観察する系が新しい膜作用蛋白質の探索や膜変形過程の解析に有効なことを示している。今後セプチンが膜突起形成を起こす機構について、理論シミュレーション解析を含め更に詳しく明らかにして行く予定である (6)。

【参考文献】

- (1) Honda M. *et al.* Morphogenesis of liposomes encapsulating actin depends on the type of actin-crosslinking. *J. Mol. Biol.* **287**, 293-300 (1999)
- (2) Takiguchi K. *et al.* Entrapping desired amounts of actin filaments and molecular motor proteins in giant liposomes. *Langmuir* **24**, 11323-11326 (2008)
- (3) Kinoshita M. Diversity of septin scaffolds. *Curr. Opin. Cell Biol.* **18**, 54-60 (2006).
- (4) Kinoshita M. *et al.* Self- and actin-templated assembly of Mammalian septins. *Dev. Cell* **3**, 791-802 (2002).
- (5) Tanaka-Takiguchi Y. *et al.* Septin-mediated uniform bracing of phospholipid membrane. 投稿中
- (6) Umeda T. *et al.* Formation and maintenance of tubular membrane projections: Experiments and numerical calculations. *BioSystems* **93**, 115-119 (2008)

