

自己組織性ポリペプチドと脂質二重膜相互作用の直接観察と動力学的解析

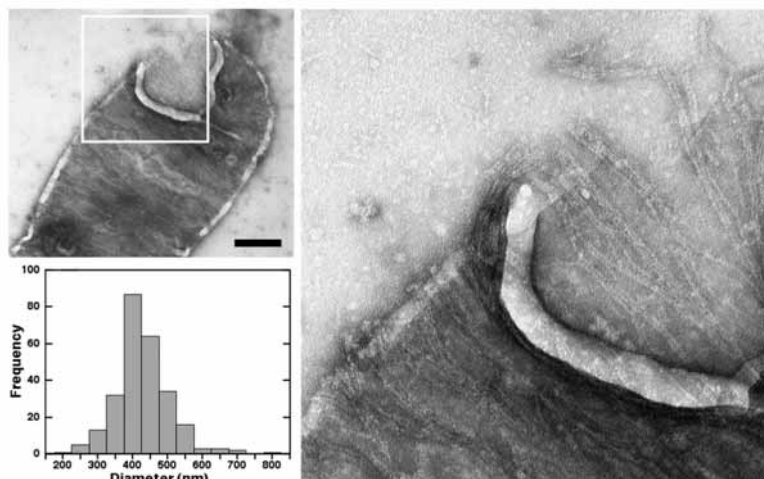
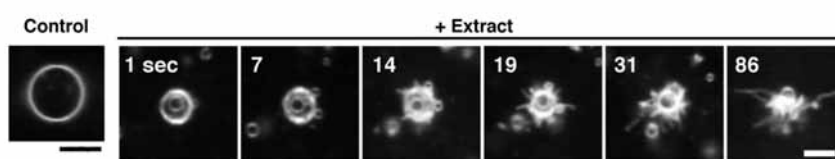
名古屋大学大学院理学研究科・助教 瀧口 金吾
京都大学大学院医学研究科・講師 木下 専
神戸大学大学院海事科学研究科・准教授 梅田 民樹

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、新規の膜作用性蛋白質の探索・同定およびその膜変形過程の解析を試みた。その結果、脳抽出液に強い膜突起誘導能、膜不安定化・小胞化能があり、突起誘導能の原因因子として第4の細胞骨格と言われる Septin を同定することに成功した。

1. 脳抽出液中のセプチンによる膜突起誘導

脳は脂質含量が多く、神経細胞は多くの突起を持つ複雑な形態をしており、また内部では活発に膜小胞輸送を行っている。我々は脳から新規の膜作用蛋白質を探索するため、ブタ脳 Cytosol を巨大リポソームに作用させ、暗視野顕微鏡下で膜が変形する過程を直接観察した。その結果、リポソーム膜から多数のチューブ状の突起が出てくる現象が観察された（図上、

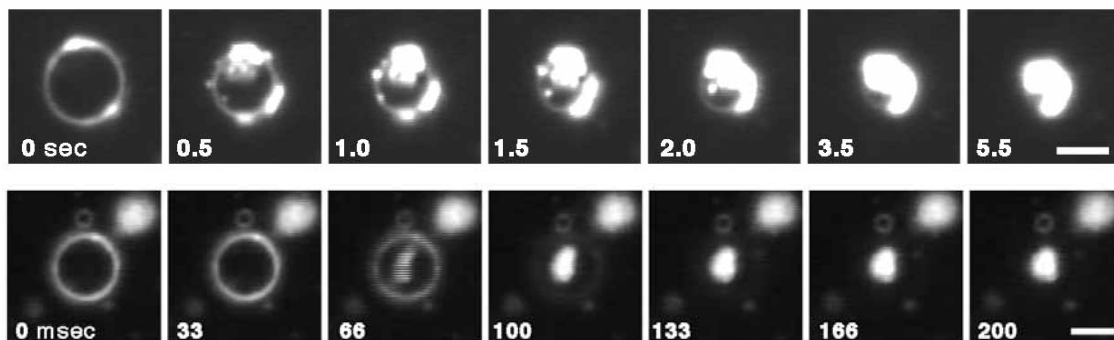
バー 5 μm ）。この変形は、イノシトールリン脂質に依存的であった。その原因蛋白質を同定したところ、第4の細胞骨格と言われる Septin であった。Septin は植物以外のすべての真核生物に保存されており、ヒトでは13種類の Septin が確認されている。Septin は GTPase ドメインをもっており、重合してフィラメントやリング状の構造を形成する。



また、Polybasic ドメインも持っており、そこで膜に結合することが示唆されている。突起形成を起こしたリポソームを電顕観察したところ、突起部分の太さは約 400 nm と揃っており（前頁図下、バー 200 nm）、Septin 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いた。Septin は、細胞内では分裂中の細胞の分裂面や神経細胞の Exocytosis が起き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 Septin 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、Septin が膜の形態形成に積極的に関与し変形を促している可能性が示唆された。今後引き続き詳しい作用機構について解析して行く予定である。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に有効なことを示している。また、この系の開発により、他の蛋白質による膜変形の過程も詳細に観察できるようになることが期待される。

2. 脳抽出液中のポリペプチド性因子によるリポソームの小胞化または破裂

上記と同様の方法によって、脳から他の新規膜作用蛋白質を探索するため、ブタ脳 Cytosol を巨大リポソームに作用させた結果、フォスファチジン酸依存的にリポソームの形態を強力に不安定化させる現象を発見した（下図、2例、バー 5 μm ）。熱処理や Protanase K 処理によってこの不安定化が抑制されることから原因因子が蛋白質もしくはペプチドであることが推測された。現在この因子の単離、同定を試みている。



<参考文献>

Sirajuddin, M. *et al.* Structural insight into filament formation by mammalian septins. *Nature* **449**, 311-315 (2007).

Kinoshita, M., Field, C. M., Coughlin, M. L., Straight, A. F., & Mitchison, T. J. Self- and actin-templated assembly of Mammalian septins. *Dev. Cell* **3**, 791-802 (2002).

Kinoshita, M. Diversity of septin scaffolds. *Curr. Opin. Cell Biol.* **18**, 54-60 (2006).