

自己組織性蛋白質と脂質二重膜のダイナミックな相互作用の直接

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
名古屋大学大学院理学研究科・教授 木下 専
神戸大学大学院海事科学研究科・准教授 梅田 民樹

1. 初期の研究目標と実際の研究推進

自己集合性を併せ持つリン脂質親和性蛋白質や生体膜の裏打ち構造を構成する細胞骨格系蛋白質は脂質二重膜に形状変化を誘発したり、逆に安定化したりすることで、細胞運動、細胞質分裂、エンドサイトーシスなどの重要な生命現象に必須の役割を果たしている。巧妙に進化してきた蛋白質と脂質二重膜との間に生じるダイナミックな相互作用と、その結果生じる生体膜の振る舞いを物理化学的に解析することは生物学的に非常に意義深い。本研究では自己組織性を併せ持つ膜作用性蛋白質と巨大リポソームとの試験管内相互作用を光学顕微鏡でリアルタイム観察する一方、電子顕微鏡で分子配向を解析し、これらのデータを統合することによって脂質二重膜の動態制御機構に関する理解を深めることを目的として行った。

その結果、神経で重要な働きをしている Septin や細菌の分裂装置構成蛋白質の 1 つ FtsZ、新規生体膜変形モジュール「F-BAR ドメイン」を持つ一群の蛋白質が、いずれの場合もリポソームに膜突起形成を起こさせることが明らかになった。形成された突起は一見全て同じに見える。しかしその形成過程や反応機構が蛋白質毎に異なっている可能性が明らかになった。

2. 研究成果

2-1. 暗視野顕微鏡による蛋白質との相互作用による膜突起形成の直接観察

初め球形をしていた巨大リポソームに、外側から Septin、F-BAR ドメイン蛋白質（神

戸大学大学院医科学研究科、伊藤俊樹博士との共同研究）、または FtsZ に YFP および膜結合配列を付加した融合蛋白質（米国デューク大メディカルセンター、大澤正輝博士より贈与）を添加すると突起が生じてくることが明らかになった（図 1）[1-3]。

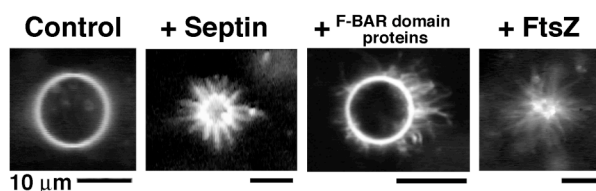


図 1

2-2. F-BAR ドメイン蛋白質による膜突起形成過程の直接観察

FBP17 は F-BAR ドメイン蛋白質の 1 種である。リアルタイムイメージングの結果、FBP17 は Septin や FtsZ と同じく、同時に何本もの突起をリポソーム表面全体から生じさせる（図 2、上段）。しかしやはり F-BAR ドメイン蛋白質の 1 種である Pacsin2 を作

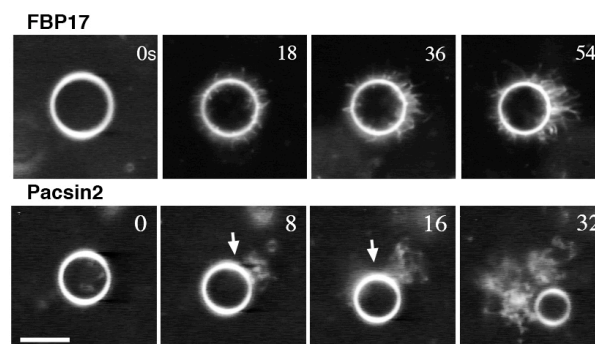


図 2

用させた場合は、突起はリポソーム上の一部からのみ生じてくることが観察された（図 2、

下段矢印)。

2-3. 突起形成したリポソームの電子顕微鏡観察

暗視野顕微鏡で変形・突起形成を起こしたことを確認したリポソーム試料を電子顕微鏡で観察し、膜突起部分を調べた結果、Septin 線維はリング状もしくは螺旋状に膜突起を取り巻くように重合するのに対し、FtsZ は突起の長軸方向に沿って線維を形成し、さらに

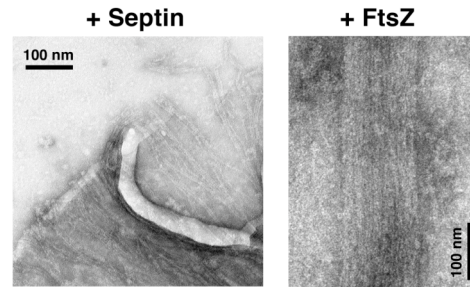


図 3

それらの線維が側面で互いに作用することで管状の構造を構築していた (図 3)。

3. まとめおよび今後の展望

3-1. 個体基盤上に支持された脂質二重膜 (supported planar bilayers (SPB)) を用いた膜突起形成機構の解析

以上の結果は、生体内には複数の異なる膜突起誘導機構が存在している可能性があることを示している。細胞内では様々な膜輸送系が複雑に絡み合いながら同時進行で機能しているので、膜の形態調節機構も多様に進化し、それに関わる蛋白質も多種多様なものが存在するようになったのであろう。

今後はなぜ蛋白質によって突起の形成過程が異なるのか、その機構を明らかにしたいと考えている。恐らくは脂質二重膜上での各蛋白質の重合核形成能の違いが重要だと予想されるので、SPB を

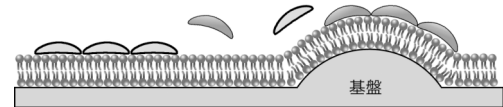


図 4

を用いた実験系を使い (本特定領域 A03 班、豊橋技術科学大、手老龍吾博士との共同研究を予定)、各蛋白質が膜表面と相互作用を開始した直後の様子を詳細に調べて行きたい。

また並行して現在構築中の蛋白質の膜への吸着と膜弾性モデルを組み合わせた理論モデルをさらに発展させ[4]、理論と実験の両アプローチから膜変形が起こる条件や仕組みに迫る。

3-2. Septin を足場とした細胞膜と細胞骨格系の力学的連結機構の解明

細胞分裂時に膜変形力を発生する細胞膜直下の蛋白質ネットワークのうち、Anillin が膜に直接会合すると考えられていたが、巨大リポソームと組み換え蛋白質を用いた実験により、細胞膜-Septin-Anillin という分子構築が示唆された。このように Septin は膜の形態変化に関与するだけではなく、Anillin を介して細胞膜と細胞骨格アクチンおよび分子モーターのミオシンとの連結をも担うと考えられ、その詳しい機構を明らかにして行く。

<参考文献>

- (1) Tanaka-Takiguchi Y. *et al.*, Septin-mediated uniform bracing of phospholipid membranes. *Curr. Biol.* 19, 140-145 (2009)
- (2) Itoh T, & De Camilli P., BAR, F-BAR (EFC) and ENTH/ANTH domains in the regulation of membrane-cytosol interfaces and membrane curvature. *Biochim. Biophys. Acta* 1761, 897-912 (2006)
- (3) Osawa M. *et al.*, Reconstitution of contractile FtsZ rings in liposomes. *Science* 320, 792-794 (2008)
- (4) Umeda T. *et al.*, Formation and maintenance of tubular membrane projections: Experiments and numerical calculations. *BioSystems* 93, 115-119 (2008)