

酸化ストレスが細胞の核膜機能を変える機構を解明

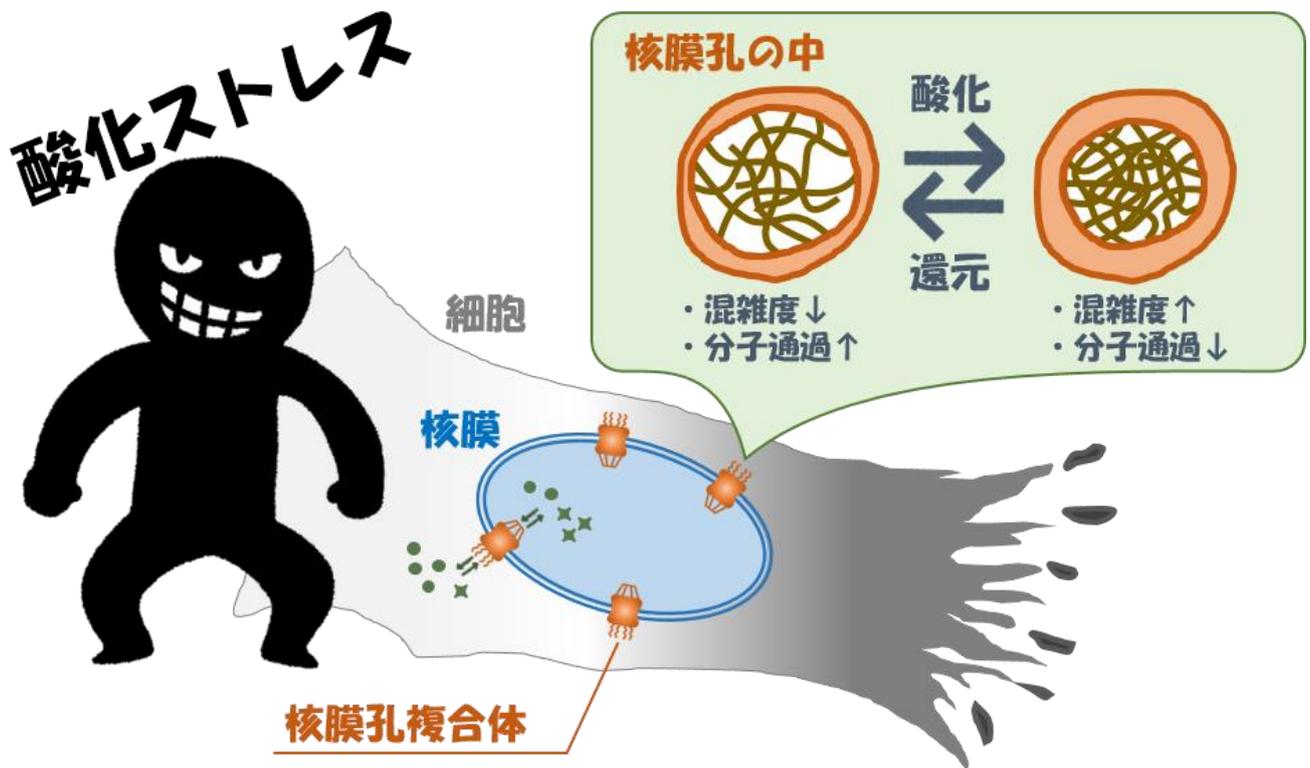
—環境に応じて分子の「混み具合」が変わる仕組み—

概要

京都大学大学院生命科学研究科の Wanzhen Zhang 博士課程学生・糸田昌宏 同助教・吉村成弘 同准教授らの研究グループは、環境の酸化・還元状態の変化により、細胞の核膜に存在する分子輸送チャンネル「核膜孔複合体」内部の分子密度が変化し、輸送が制御される機構を明らかにしました。

細胞内で、いろいろな外的刺激を感知する場である細胞質と、遺伝子を収納し生命機能の司令塔となる細胞核は、核膜に空いた穴「核膜孔複合体」を介して物質のやりとりをすることでコミュニケーションしています。この核膜孔複合体には、その内部に分子が非常に“混み合った”ゲル状の分子夾雑バリアが形成されていて、適切に特定の物質だけを通す「選択的輸送」を可能にしています。本研究は、この核膜孔の中の“混み具合”を生きた細胞の中で測定する蛍光分子プローブ GimRET や、0.01 秒程度の分子通過を一分子レベルで追跡する顕微鏡システムなどを用いて、酸化還元状態の変化によって核膜孔複合体の性質が変化することを明らかにしました。このことから、細胞には環境の変化に応じて分子の“混み具合”をコントロールする機構が存在することが分かりました。今後、分子の“混み具合”の視点から、細胞内のさまざまな構造体の形成・維持の仕組みの根本的理解や、ストレス応答の仕組みの解明などにつながる事が期待されます。

本成果は、2020 年 12 月 16 日に国際学術誌「Cell Reports」にオンライン掲載されました。



1. 背景

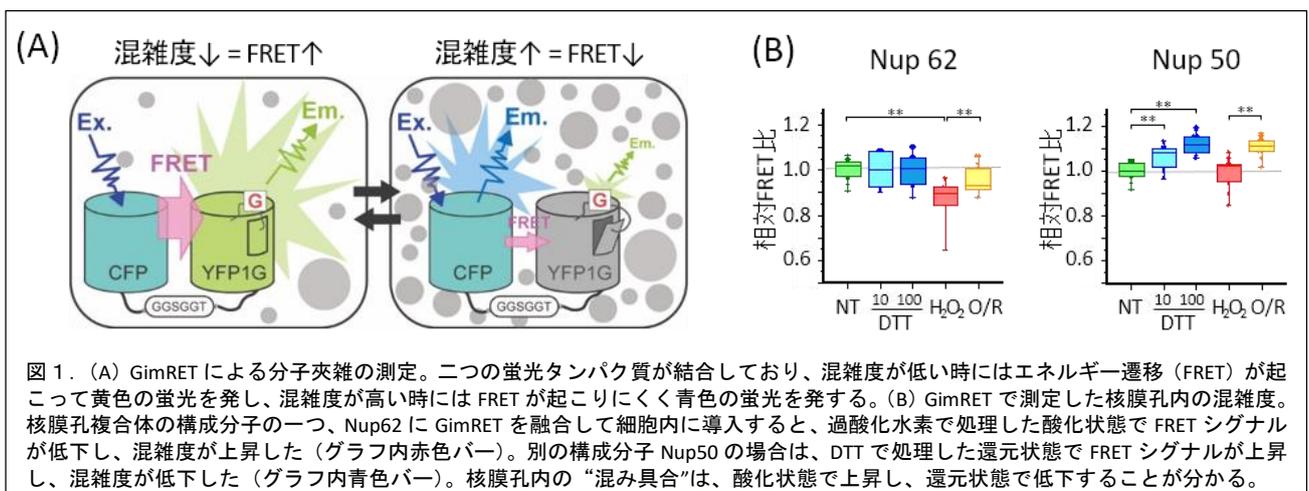
近年の研究で、タンパク質などの分子が“混み合っ”て存在することで自発的に集積して特徴的な集合体を形成する現象＝分子夾雑による相分離、が着目されています。この現象は、安定した非平衡状態を作り出すことで、細胞内でさまざまな機能を効率よく果たすための機能領域の形成や、分裂期染色体の凝集など、いろいろな生命活動を成り立たせている原理と考えることができます。このように“混み合うこと”により機能を発揮する細胞内構造の典型的なものが、核膜孔複合体です。

核膜孔複合体は、細胞の核膜に埋め込まれている穴状の構造体で、一細胞あたり 3,000～5,000 個程度存在します。細胞が外から得た情報は、その情報伝達分子が核膜孔を通過して核内に到達することで遺伝子応答などを引き起こし、また細胞核内にある遺伝子が機能するためには、その産物である RNA が核膜孔を通過して細胞質側に送られなければならないなど、核膜孔を介した分子コミュニケーションは生命維持に必須の役割を果たします。この核膜孔の中には、その構成分子が非常に高密度で存在しており、ゲル状に相分離した分子夾雑バリアを形成しています。核膜孔は何でも自由に通す穴ではなく、内部の分子夾雑バリアに適応できる分子のみに通過を許可する「門番」として機能し、その「通行人」を管理しているのです。

我々は、この「門番」と「通行人」の関係を詳細に調べていくうち、核膜孔のバリア形成領域には、酸化状態で架橋構造（ジスルフィド結合）を形成する部分（システイン残基）が非常に多く含まれていることに気がきました。そこで、環境が変化したときこの「門番」はどのようにその監督基準を変えるのか、その機能機序を明らかにするために、本研究を開始しました。

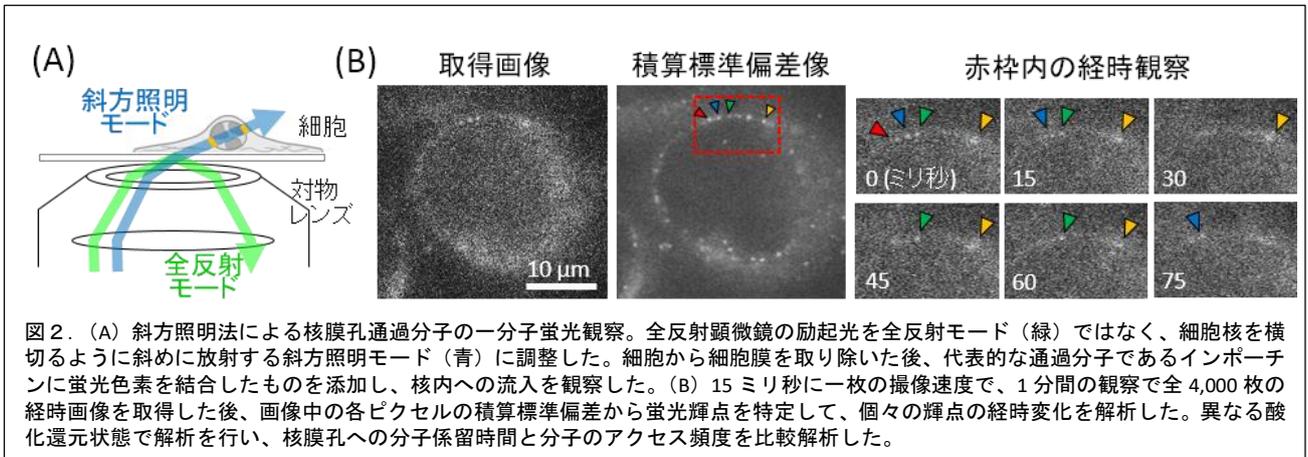
2. 研究手法・成果

生きた細胞内で核膜孔内部の分子の“混み具合”を測定するため、蛍光共鳴エネルギー遷移（FRET）という現象を利用して分子夾雑を測定する蛍光プローブ GimRET を用いました（図 1 A）。GimRET を核膜孔内の異なる領域に導入して酸化還元状態の変化に伴う“混み具合”の変化を測定したところ、酸化に伴い混雑度は上昇し、逆に還元状態では混雑度が低下すること、そしてこの変化は可逆的であることが明らかになりました（図 1 B）。酸化状態で架橋構造（ジスルフィド結合）を形成しないような変異を導入すると、この混雑度の変化が見られなくなることから、酸化還元状態に応じて形成される架橋構造によって混雑度が制御されていることが分かりました。



さらに、このような変化が核膜孔を介した分子輸送機能にどう影響するかを調べるため、全反射型顕微鏡を改変した斜方照明法により、核膜孔を通過する分子を一分子レベルで追跡するシステムを構築して観察を行いました（図 2）。インポーチンという代表的な核膜孔通過分子を用いて観察を行った結果、通常は多くの場合

0.015 秒程度で核膜孔を通過するところ、酸化ストレス下ではその 10 倍にあたる 0.15 秒以上も核膜孔内で留められるケースが多くなることが分かりました。逆に還元状態においては、分子の通過時間はあまり変わらないものの、通過頻度が 2 倍近く上昇することで輸送が活発化していました。



これらの結果から、核膜孔には外部の酸化還元環境の変化に応じて分子夾雑バリアの性質を変化させる仕組みが存在することが分かりました。このように柔軟に性質を変えられる「門番」がいることで、核膜は適時適切な「通行人」を通すことができ、生命機能の環境適応性を保っているものと考えられます。

3. 波及効果、今後の予定

上述のように、分子夾雑に伴う相分離は生命の様々な機能の発動原理として大変重要な概念となってきています。本研究は、核膜孔複合体内の分子夾雑バリアに着目することで、細胞内で相分離構造体の性質が環境に応じて変化することを示し、その“動的な”側面を明らかにしました。今後、同様の手法を用いてさまざまな相分離構造体の動態を理解する研究へと展開していくことが期待されます。また、この相分離構造の性質の制御に、酸化ストレス下で形成されるタンパク質分子の架橋構造（ジスルフィド結合）が関与していることを突き止めました。今後、分子の“混み具合”という新たな着眼点から、細胞のストレス応答の根本的な仕組みの解明につながることを期待されます。

4. 研究プロジェクトについて

本研究プロジェクトは、科研費・新学術領域研究「少数性生物学」（24115512）、および、京都大学物質－細胞統合システム拠点（WPI-iCeMS）・Cross-Disciplinary Research Promotion Project の支援を受けて実施されました。

<研究者のコメント>

非常に複雑で多彩な活動を見せる「生命」ですが、その部品は「分子」という物質にすぎません。物質はいかにして生命になるのか、その鍵として分子夾雑と相分離に着目しました。今後も生命機能の知られざる面を独自の視点から掘り起こすべく、研究を進めていきます。

<論文タイトルと著者>

タイトル Redox-sensitive Cysteines Confer Proximal Control of the Molecular Crowding Barrier in the Nuclear Pore (核膜孔複合体はその構成サブユニットの多数のシステイン残基において酸化還元状態を感知して分子夾雑バリアの性質を変化させる)

著者 Wanzhen Zhang、渡邊隆治、小西秀明、藤原敬宏、吉村成弘、桑田昌宏

掲載誌 Cell Reports

DOI 10.1016/j.celrep.2020.108484