

メカニカル・アンフォールディングが細胞内流動力を伝達する

—走る電車の力を伝えるにはゴム人間が役に立つ—

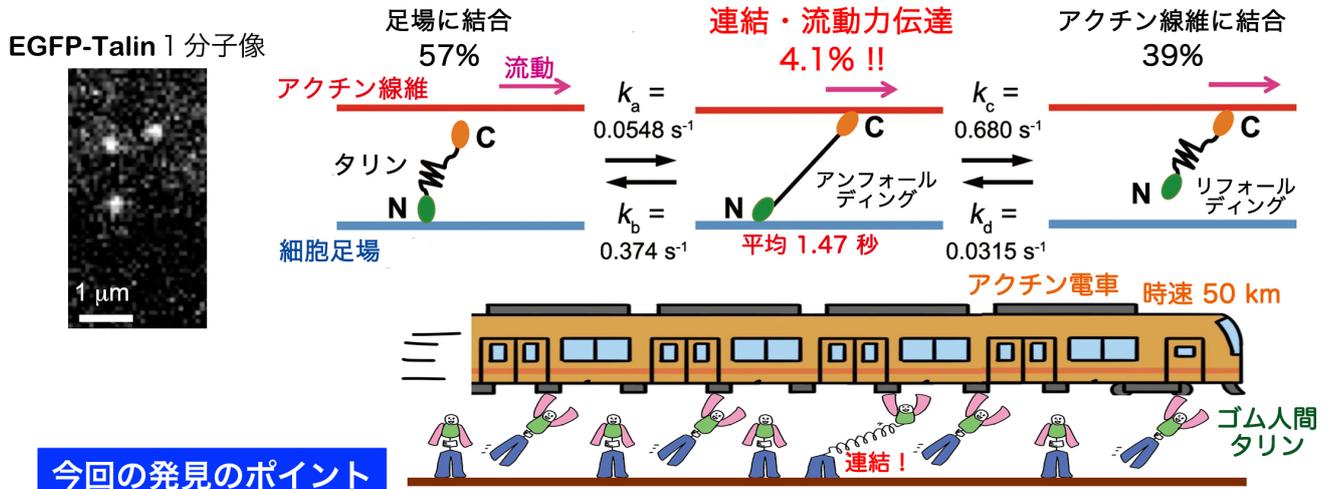
概要

細胞は、接着装置を介して細胞の中の力を細胞外の構造に伝えます。アクチン細胞骨格は、細胞内で力を発生しながら動くダイナミックな構造体です。接着装置は多様なタンパク質により構成されますが、動き続けるアクチン構造の動力を、どのように細胞外の構造に伝達するのかわかっていませんでした。

京都大学大学院生命科学研究科 山城佐和子 講師、渡邊直樹 同教授らは、米国リーハイ大学 Dimitrios Vavylonis 教授らとの共同研究により、架橋タンパク質が流動するアクチン線維と細胞の足場（基質）の間を繋ぐ過程で、流動力に引っ張られてタンパク質の一部がほどける（アンフォールドする）ことで、流動力を足場に伝達することを明らかにしました。私たちの生活するスケールでは、動力は歯車などの固い部品によって伝達されます。一方、細胞の中では、伸縮する柔らかい分子が力を伝えていました。もしタンパク質が人間の大きさとする、流動するアクチン線維は時速 50 km で走る電車に相当します。本研究では、タンパク質がゴム人間のように伸びながら電車を掴んで地面に力を伝える新しい力伝達様式を明らかにしました。

本成果は、2023年12月20日に国際学術誌「Nature Communications」にオンライン掲載されました。

細胞内蛍光1分子イメージングで捉えたアクチン流動-細胞足場連結のしくみ



今回の発見のポイント

1. タンパク質のアンフォールディングが促進する新しい力伝達機構の発見
2. ごく一部のタリン分子が一過的に連結し流動力を伝達

1. 背景

細胞は、接着斑と呼ばれる接着装置を介して細胞外の足場（基質）とアクチン細胞骨格を連結します。接着斑では、接着分子インテグリンが細胞外で足場と結合し、その細胞質側では多様な接着斑タンパク質を介してアクチン線維と連結します。アクチン細胞骨格は、重合またはモータータンパク質ミオシンとの相互作用により細胞内で力を発生するダイナミックな構造体です。接着斑では、アクチン線維の牽引力が、接着斑タンパク質とインテグリンを介して細胞足場に伝達されます。

生命科学の分野では一般的に、アクチン線維は静的な結合により接着斑に繋ぎ留められていると考えられています。一方、われわれは細胞内蛍光アクチン1分子イメージングにより、接着斑に連結されているはずのアクチン線維が、求心性アクチン線維流動により絶え間なく細胞中心に向かって流動していることを、先行研究で観察しました (Yamashiro et al., MBoC 25, 1010-1024, 2014)。接着斑タンパク質はどのように、流動し続けるアクチン線維を細胞足場に連結し、流動力を伝達するのでしょうか。われわれは既存の知見では説明できない、ダイナミックなアクチン細胞骨格を細胞足場に連結する機構の解明に取り組みました。

2. 研究手法・成果

本研究では、主要な接着斑タンパク質であるタリン (talin) の細胞内蛍光1分子イメージングを行いました。タリンはインテグリン結合部位とアクチン結合部位を持ち、インテグリンとアクチン線維を直接架橋します。また、タリンのインテグリン結合部位とアクチン結合部位の間には、 α ヘリックスの束からなる構造（サブドメイン）が連なっており、引っ張ると α ヘリックスがアンフォールドして伸び、離すとリフォールドするバネのような性質があることがわかっています。培養細胞内でタリンを1分子ごとに観察すると、ほとんどのタリン分子は、基質に連結して止まっているか、アクチン線維に結合して流動しているかの2種類のふるまいに大別できることがわかりました。より高い時空間解像度で詳細に観察すると、わずか4%程度のタリン分子が、流動するアクチン線維と基質を、平均約1.5秒のあいだ伸展しながら一過的に連結する過程 (elastic transient clutch) を可視化することに成功しました (図1)。

さらにわれわれは、アクチン線維流動力によりタリンが引っ張られ、バネ様のドメインがアンフォールドすることが連結に必要なのではないかと考え、検証しました。タリン発現抑制細胞にタリン変異体を発現させ、流動するアクチン構造と基質との連結の程度を調べた結果、バネ様のドメインとアクチン結合部位の両方が連結に必要であることがわかりました。次に数理モデル解析により、流動するアクチン線維と基質を連結するタリン分子に、アンフォールドできるサブドメインが一つでもあると、連結時間が長くなり流動力の伝達が増大することを明らかにしました (図2)。

以上の結果より、異なるスピードで動く2つの構造をタンパク質が連結し、力を伝達する仕組みを明らかにしました。すなわち、ごく一部のタリンが、確率的におこる結合により流動するアクチン線維と基質の間を連結し、連結したタリンは流動力に引っ張られてほどける（メカニカル・アンフォールディングする）ことでアクチン線維と基質の間の連結を持続し、流動力を基質に伝達することを明らかにしました。

3. 波及効果、今後の予定

本研究では、タンパク質の一部が引っ張られてほどけながら、異なるスピードで動く（一方は止まっている）2つの細胞構造の間を繋ぎ、動力を伝達することを明らかにしました。外力によってアンフォールドする分子の機能は近年注目を集めており、外力の衝撃を和らげる緩衝材となる働きと、外力による伸縮に依存して結合パートナーとの親和性を変化させることで外力を伝えるメカノセンサーとしての役割が主に提唱されていま

す。本成果は上記の2つの役割とは異なり、外力によって引き延ばされる分子の性質が動力の伝達を促進する新しい役割を見出しました。細胞内の多様な構造はダイナミックに動きまわっており、本研究で見出したタリンの elastic transient clutch に似た機構で、架橋タンパク質は動力を構造間で伝達しているかもしれません。本研究で示したように、細胞内1分子顕微鏡は細胞内外を伝播する目には見えない「力」を分子の挙動から直接捉えられる強力な手法です。今後、細胞内1分子顕微鏡を駆使して細胞内外の力伝達の仕組みや、力の役割をさらに明らかにしていく予定です。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は、下記機関より資金的支援を受けて実施されました。

文部科学省科学研究費補助金 新学術領域研究・JP22H04843、学術変革研究(A)・JP21H05780、日本学術振興会科学研究費補助金 基盤研究(C)・JP21K06150 (山城佐和子)、日本学術振興会科学研究費補助金 基盤研究(A)・JP22H00456 (渡邊直樹)、米国国立衛生研究所 (NIH) RO1 グラント R35GM136372 (Dimitrios Vavylonis、渡邊直樹)

<研究者のコメント>

本研究の突破口は、引っ張られてほどけながら細胞内流動と足場をつなぐタリン分子の挙動を、自分の目で見つけたことでした。連結する分子の割合が非常に少ないため、研究を始めてしばらくは、タリンを細胞内1分子イメージングしても、どのように分子が流動と足場を繋ぐのか不明でした。そこで顕微鏡の時空間の解像度を上げて、「絶対に何かある！」と信じてモニターを凝視すると、撮影したばかりの生データから特徴的な挙動をする1分子シグナルを見つけました。この発見はタンパク質のメカニカル・アンフォールディングの新しい役割を提唱する重要な成果に繋がり、執念で観察することの大切さを実感しています。

<論文タイトルと著者>

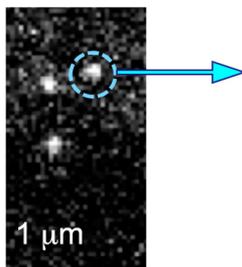
タイトル：Force transmission by retrograde actin flow-induced dynamic molecular stretching of Talin (アクチン流動によるタリン分子のダイナミックなストレッチが力を伝達する)

著者：山城佐和子、David M. Rukowski、Kelli Ann Lynch、劉穎、Dimitrios Vavylonis、渡邊直樹

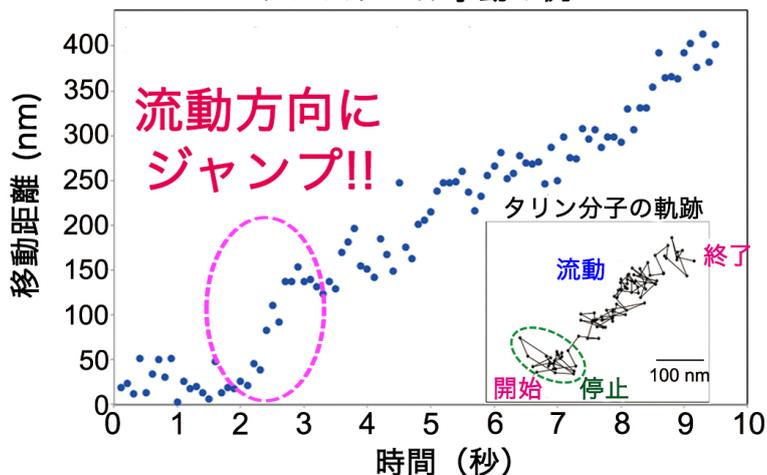
掲載誌：Nature Communications DOI : 10.1038/s41467-023-44018-z.

<イメージ図>

A. EGFP-Talin 1 分子像



B. タリン分子のアンフォールディングを示す
ナノスケール挙動の例



C. タリンの elastic transient clutch による連結

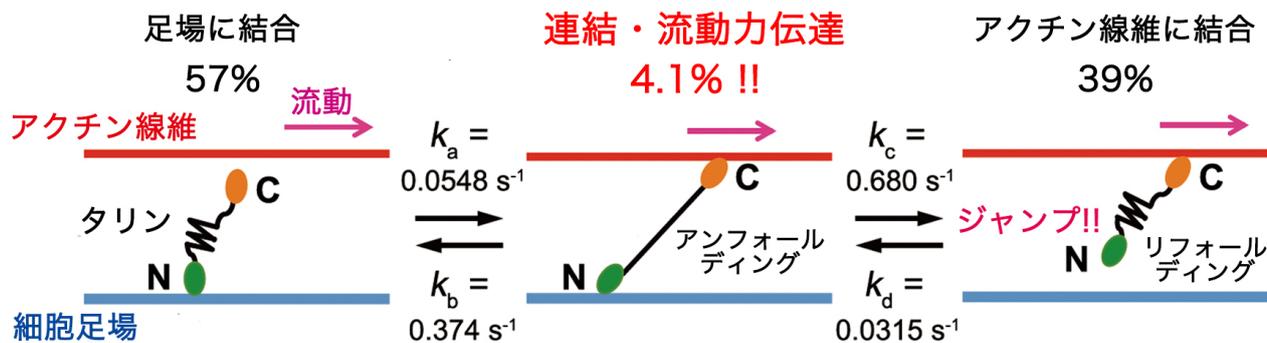


図1 細胞内蛍光1分子イメージングによりタリンが流動するアクチン線維と細胞足場を連結する過程を可視化した。

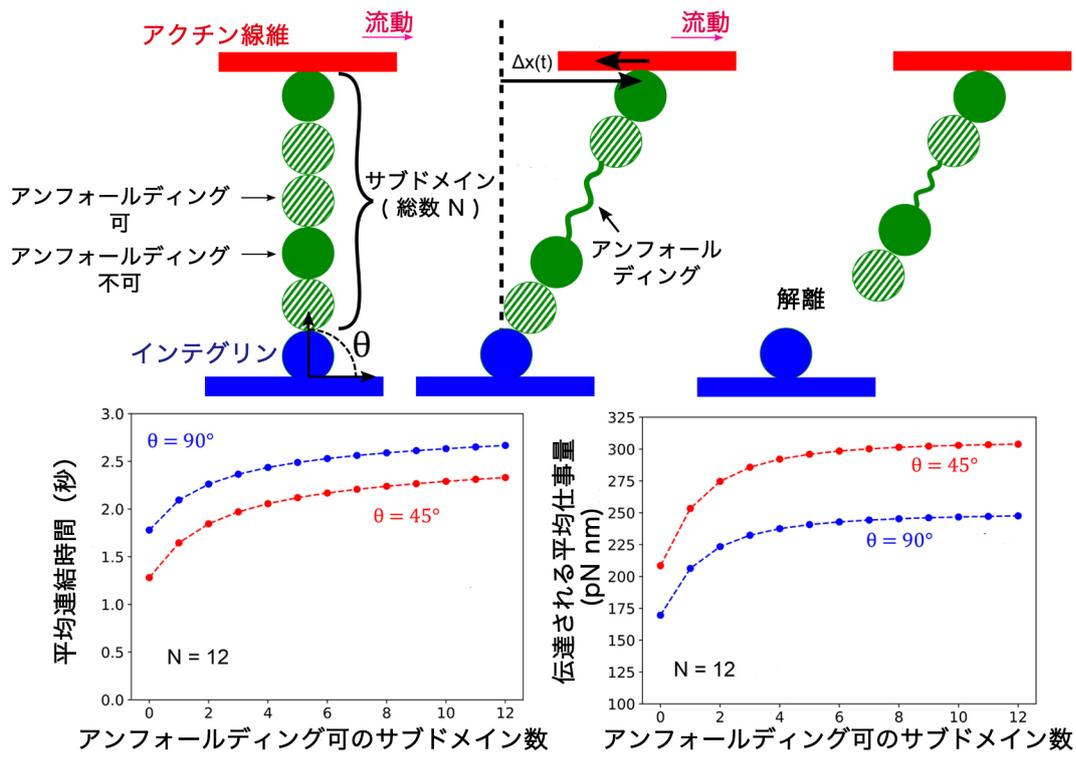


図2 数理モデル解析により、タリン分子にアンフォールドできるサブドメインが一つでもあると、連結時間が長くなり流動力の伝達が増大することを明らかにした。