

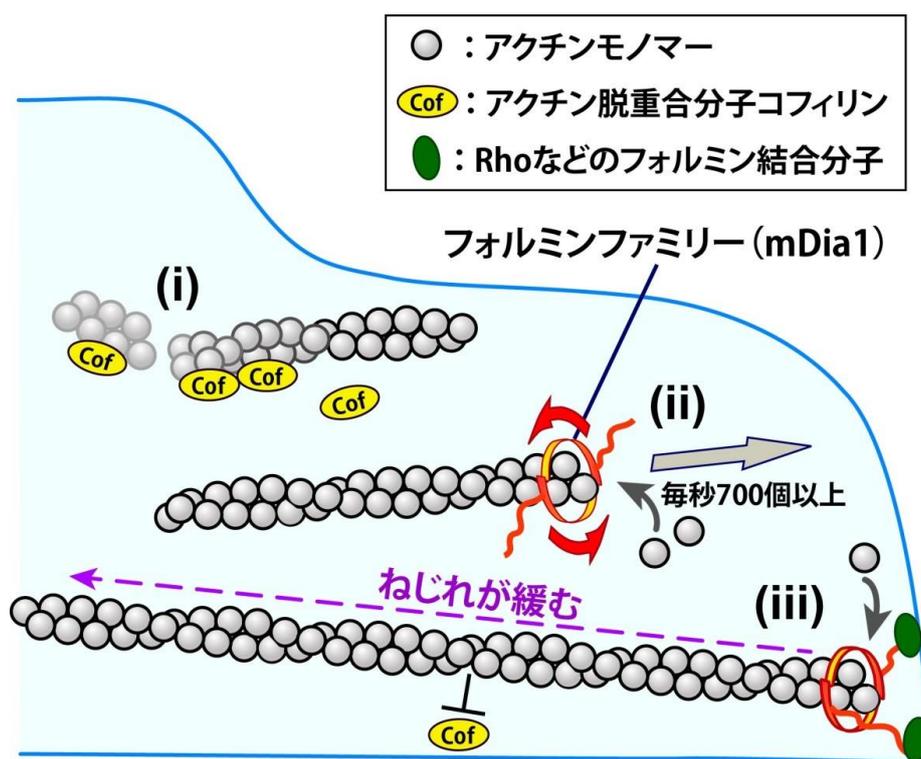
分子が長距離にわたり細胞骨格線維を安定化する機構を発見

—フォルミンファミリーmDia1 が回転重合によってアクチン線維のねじれを緩める—

概要

細胞の中には、重合・脱重合を盛んに繰り返すアクチン線維と、逆に非常に高い安定性を示すアクチン線維が共存しています。これらが細胞の形を保持しつつ、外来からの刺激に応じて迅速に組み換わることで生命現象を支えています。京都大学大学院生命科学研究科 渡邊直樹 教授（同医学研究科教授 兼務）らの研究グループは、名古屋大学大学院理学研究科 成田哲博 准教授らとの共同研究で、細胞内のアクチン重合促進分子とアクチン脱重合分子が、互いに逆方向に線維のねじれ構造を変化させることで、線維の安定性を制御することを見出しました。本研究はアクチン線維先端に結合した、たった1つの重合促進分子が長距離にわたって線維を安定化することを明らかにするものであり、多彩な細胞構造が共存しつつ形成されるしくみについての新たな枠組みを提供する成果です。

本研究は、日本時間 2018 年 5 月 14 日に「米国科学アカデミー紀要」(PNAS) のオンライン版に掲載されました。



- (i) 通常、アクチン線維は、重合後速やかに切断・分解される。
- (ii) フォルミンファミリーは、線維らせんに沿って回転重合する。
- (iii) 回転が制限されると、アクチン線維のねじれを緩め、コフィリンを阻害することで、アクチン線維を安定化する。

1. 背景

多くの生命現象は、細胞の形の変化とリンクしています。細胞表層に発達するアクチン細胞骨格系は、種々の刺激に応答する多くの分子機構によって制御され、ダイナミックに形をかえることが知られています。一方で、生体や組織の中では細胞は決められた枠組みに形を維持しなければなりません。例えば、細胞の先端端にできる葉状仮足では、アクチン線維の3分の1が重合後10秒以内に崩壊します。一方、細胞の接着斑を結ぶアクチンストレス線維や上皮頂端部に形成されるリング状アクチン束では、線維は5分以上の半減期でゆっくり崩壊します。細胞内には、コフィリンを中心とするアクチン脱重合機構が豊富に存在するため、いかにして重合した線維が壊されずに、安定なアクチン線維束まで組み込まれるかはミステリーでした。

フォルミンファミリーは、真核生物に広く存在するアクチン重合促進分子です。そのユニークな性質として、重合するアクチン線維端に結合したまま移動し、前進しつつ線維を伸長する能力をもっています。このとき、アクチン線維のらせん構造（ロングピッチらせん）に沿って回転することが当グループの以前の研究によって明らかにされました。一方、アクチン脱重合因子コフィリンが結合したアクチン線維ではねじれが約30%も強くなることが知られ、ねじれを介して線維を切断すると考えられてきました。興味深いことに、もしフォルミンファミリーが自由に回転できない状態で線維を伸長しつづけた場合、線維のねじれが緩む方向にトルクがかかり、コフィリンによる線維切断に干渉する可能性が予測されます。こうした線維のねじれを介する分子間相互作用が実際に存在するかについては、直接検証することが重要です。

2. 研究手法・成果

今回の研究では、①顕微鏡下での再構成実験、②細胞単分子イメージングを用いた2つの分子機構の相互作用の解析、③電子顕微鏡による線維のねじれの観察を行いました。まず、顕微鏡下でフォルミンファミリーのメンバーである mDia1 が重合するアクチン線維を蛍光標識し、コフィリンの作用を可視化観察しました。アクチンのプラス端（アクチン繊維が伸長する側）に結合した mDia1 を固定し、線維の反対端も固定した状態で線維を伸長させたところ、固定しないものに比べコフィリンによる切断頻度が減少しました。両端が固定されたとき、mDia1 の回転が生むトルクが線維に伝わり、コフィリンによるねじれに対抗したと考えられます。また、この効果は、アクチン重合を速める条件下でさらに顕著になりました。培養細胞においても、アクチン重合活性が高く細胞構造につながるタイプの mDia1 の変異体 ($\Delta C63$) を過剰発現すると、細胞内のアクチン線維が安定化し寿命が延びることがわかりました。このように顕微鏡下、細胞内の両方において、mDia1 による回転トルクがかかるアクチン線維へのコフィリンの結合が弱くなっていました。次に電子顕微鏡を用い、mDia1 が伸長するアクチン線維を両端で固定した場合、線維らせんのピッチ長（らせん1回転の長さ）が延長することを可視化することに成功しました。

以上のように、mDia1 が回転重合によってアクチン線維のねじれを緩め、アクチン脱重合分子コフィリンと逆方向に力と作用をおよぼすことを、分子構造から細胞内機能に至るまで可視化し、証明することに成功しました。

3. 波及効果、今後の予定

近年、細胞分化、個体発生、組織構築、がんの拡大などにおける物理作用の果たす役割に注目が集まっています。細胞外マトリックス（生体組織を形作る多様な骨組み）の硬さや細胞外から働く力とともに、細胞内ではモーター分子ミオシンが発生する収縮力が主に研究されてきました。今回の研究は、①フォルミンファミリーという新たな力の発生装置の役割、②細胞骨格線維の軸回りの力の発生、③線維端に結合した1つの分子が

ら線維全体へ波及する遠距離作用を明らかにするものであり、生命の力学制御に関するわれわれの理解に、新たな枠組みをもたらすことが期待されます。例えば、この機構は細胞内の特定のアクチン線維の安定性を巧妙に遠隔操作している可能性があります。また、生物の左右非対称やキラリティー（対掌性：両手のひらのように、ある形がその鏡像と重なり合わない性質）の形成過程において、フォルミンファミリーを含むアクチン細胞骨格制御機構がどのように働きかけるのかを解く鍵となるかもしれません。さらに、本研究グループは以前、細胞が物理ストレスにさらされるとフォルミンファミリーが急速に活性化し、壊れたアクチンネットワークを修復回生することを報告しました。今回のアクチン線維安定化機構の発見は、細胞がもつアンチメカノストレス機構（機械的な刺激に対抗するメカニズム）としてのフォルミンファミリーの役割をさらに明確にしたと考えられます。今後は、生体内に近い標本における、フォルミンファミリーやアクチンの分子挙動や線維構造の変化を捕捉することで、生命の力学制御のしくみの解明が飛躍的に進み、力学的に細胞や組織を操作・制御するための的確な手法の開発に役立つことが期待されます。

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。

- 科学技術振興機構（JST）戦略的創造研究推進事業（CREST）「統合 1 細胞解析のための革新的技術基盤」
- 日本学術振興会（JSPS）科学研究費補助金
- 上原記念生命科学財団。

<論文タイトルと著者>

タイトル：Helical rotation of the diaphanous-related formin mDia1 generates actin filaments resistant to cofilin

著者：Hiroaki Mizuno, Kotaro Tanaka, Sawako Yamashiro, Akihiro Narita and Naoki Watanabe,

掲載誌：Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America（PNAS）

DOI：10.1073/pnas.1803415115