

微小管先端運動マシナリー構築



こしま こう たい
五 島 剛 太

微小管は細胞内で重合と脱重合を繰り返すポリマーで、細胞分裂、物質運搬などに必須の役割を果たす。微小管には極性があり、頻繁に伸縮するのはプラス端である。プラス端が何らかの細胞内構造体に結合しながら伸縮すると、これらの構造体には力がかかけられ、移動したり張力が発生する。たとえば細胞分裂中期において染色体は微小管プラス端と結合することで張力がかけられ、また後期には微小管の縮退により解離した姉妹染色体は分配される。

細胞内では微小管プラス端局在化因子群が微小管に動的な性質を与える。コアとなるタンパク質はEB1, XMAP215, 両者を連結するSentinタンパク質であり、それに加え、いくつかの他のプラス端局在タンパク質にも微小管の動態を制御する可能性のある因子がある。しかしながら、現在までに精製したタンパク質標品を用いてin vitroで微小管プラス端の動態を忠実に再現した例はない。

私たちは2007年、ショウジョウバエ培養細胞において全ゲノムRNAiスクリーニングを行い、紡錘体の形成に必要な205遺伝子を同定した。この中には微小管の長さに関わる既知・未知の遺伝子が含まれたため、これらのタンパク質を精製してin vitroで微小管の動態再現を目指すプロジェクトを開始した。そして最近、3つの精製タンパク質をチューブリンと反応させることで動的な

微小管を生み出すことに成功した(Li et al. 2012)。しかし、動態のパラメーターは細胞内のものを忠実に再現しているとは言えず、系にはさらにいくつかのタンパク質が欠けているとの結論に至った。

本研究では、これまでに見出した動的微小管形成3因子(EB1, XMAP215, Sentin)に、細胞を使った実験でプラス端動態を制御していることが示されている他の2因子を追加し、プラス端動態のより忠実なin vitro再現を目指す。方法は単純明快で、精製した複数のタンパク質を混ぜて反応させ、フリーの微小管プラス端の動きを全反射顕微鏡で撮影し定量的に解析する。激しく伸縮を繰り返す中心体微小管やゆっくりと重合を続ける動原体微小管など、細胞内には部位や細胞周期によって動態の異なる微小管が存在するが、因子の濃度や翻訳後修飾状態を変えることでそれぞれの状態の再現を目指したい。

運動超分子の再構成を通じて微小管動態を再現することができれば、表現型観察を基に推測されていた各因子の働きを定量的なレベルで検証できるだけでなく、微小管が関わる高次機能の再構成、ひいては細胞分裂装置や細胞質微小管ネットワークの人工構築につながり、複雑な生命機能の理解に必須な基盤技術創成をもたらすと考える。

研究のキーワード：微小管動態, In vitro再構成, 微小管プラス端結合タンパク質
研究室HPのURL：<http://bunshi4.bio.nagoya-u.ac.jp/~tenure2/goshima.html>