

1分子追跡で見る細胞膜上のドメインとシグナル変換

楠見明弘

膜機構プロジェクト, ICORP-JST, 京大 物質-細胞統合システム拠点
(アイセムス= iCeMS = Institute for Integrated Cell Material Sciences)
ナノ再生医工学研究センター/再生医科学研究所

最近、さまざまなシグナル伝達分子の挙動や相互作用・活性化などを、生きている細胞において1分子レベルで見ることに成功しつつある。このために、1蛍光分子観察、1分子 FRET、1粒子追跡、1分子捕捉と操作などの1分子ナノバイオテクノロジーの方法を、生細胞中で使えるように工夫してきた。1分子ごとに見ると、多数分子の平均の観察ではわからない機構や現象も見つかるであろう、と思いながら研究していたのであるが、本当に面白いことが出ることかどうかわからない不安でもあった。実際にやってみると、予想以上に面白い結果が次々と得られつつある。すなわち、1分子で見ても触らないとわからないような結果が、どんどん見つかっていく。本講演では、このような結果の一部をご紹介します。この講演が、このような新しいタイプの研究に興味を持っていただくきっかけとなることを願っている。

本講演では、細胞膜の3つのドメイン構造を取り上げる。

第一に、細胞膜構造のパラダイムシフトについて話したい。「細胞膜は連続的な2次元液体構造をとっている」というのは、単純化しすぎた描像であり、実際には、細胞膜中に取り込まれたすべての分子の拡散に対して、細胞膜全体に仕切りが入って 30-230nm のコンパートメントに分かれている。これが、第一のドメイン構造である。この仕切りは、細胞膜の内側表面に接して存在するアクチン線維でできた膜骨格、および、それらに結合した、様々な膜貫通型タンパク質によってできているらしい。我々は、前者を「膜骨格フェンス (membrane-skeleton fence) モデル」、後者を「アンカード膜タンパク質ピケット (anchored-protein picket) モデル」と呼んでいる。このモデルによれば、細胞外からやってきたリガンドが細胞膜上の受容体に結合して受容体が会合したときに、拡散係数が $1/3 \sim 1/10$ 位になるという現象が簡単に説明できるようになる。会合すると、ホップするためには、膜骨格は大きく揺らぐか、アクチン線維が切れたときに大きくしかも長時間隙間が開く必要があるからである。逆に、会合した受容体は膜骨格の網目中に数秒—10秒程度閉じこめられるようになる。これによって、最初にリガンドが結合した部位が、短時間ではあるが(細胞にとっては、おそらく十分長い間)、記憶されるようになる。

第二と第三の話題は、実に多くのシグナル伝達の素過程に、活性化された分子とエフェクターとの結合を促進したり安定化させる、しかも、短寿命のメゾドメイン=5-100nm サイズの分子複合体 についての結果である。このような短寿命シグナル伝達複合体は、1秒以下の寿命をもつことが多いが、シグナル伝達の素過程を担っているように思われる。細胞全体としてみると分のオーダーのシグナル変換が見えていても、それらは、1分子のレベルではパルス状の活性化パターンをもっており、そのようなきわめて短時間のシグナル伝達の素過程の重ね合わせが、分単位のアナログな変化の基礎をなしているようなのである。これは、シグナルシステムとしては、1分子のレベルでは、分子は殆ど常に OFF の状態に保たれており、1瞬だけ ON になるという方式が進化の過程で選ばれたことを示している。

これらの短寿命シグナル変換ドメインとして2種のものを見いだしている。すなわち、第二のメゾドメインまたはメゾ複合体は、足場タンパク質 (scaffolding protein) がかわるような、蛋白

質間相互作用にもとづく細胞膜上のドメインである。例として、がん遺伝子産物 Ras-Raf シグナル伝達にかかわる、SUR-8, galectin-1 などが細胞膜の内側表面に作る短寿命タンパク質複合体を取り上げる。第三のメゾドメインは、タンパク質間相互作用に加えて、さらに脂質間相互作用が関与してできる足場であるラフトドメインである。これについては、CD59 などの glycosylphosphatidyoinositol (GPI)アンカー型受容体のシグナル変換を取り上げる。

これらのメゾドメインはきわめて動的であることが特徴で、そこへ特定分子が頻繁に出入りする。さらに、アクチン線維自体の成長と消失まで含めてアクチン線維と実に動的な相互作用をおこなっている。これは、アクチン膜骨格が多くのシグナル分子のプールとなっていることに依拠しているのかもしれない。これは、第一のメゾドメイン(膜骨格フェンスとピケットによるコンパートメント)の成因として述べたアクチン膜骨格が、細胞膜におけるシグナル変換においても重要な働きを担っている可能性を示すものである。すなわち、細胞膜の構造・機能研究においては、アクチン膜骨格を考慮することが必要である。また、1分子法によるアプローチがこれからも有効であろう。