

論文内容の要旨

論文題目 Regulation of actin polymerization for cytoskeleton formation through Arp2/3 complex and WASP family proteins (WASP ファミリータンパク質と Arp2/3 複合体によるアクチン細胞骨格形成メカニズムについて)

氏名 末次志郎

アクチンフィラメントの形成と消失は生物の様々な局面における形態の形成に重要な役割を果たしている。アクチンフィラメントが新たに形成される場合、その鍵となるタンパク質の一つが Arp2/3 複合体である。Arp2/3 複合体はアクチン重合核となり、糸状仮足（フィロポディア）や葉状仮足（ラメリポディア）といったアクチンフィラメントからなる構造の形成に必要不可欠な役割を果たしている。これらの糸状仮足や葉状仮足の形成は細胞運動などに伴う基本的な構造である。WASP ファミリータンパク質は様々なシグナルを統合し、Arp2/3 複合体の活性を制御している。すなわち WASP ファミリータンパク質は Arp2/3 複合体によって誘導されるアクチン重合の場所を制御していると考えられている。この Arp2/3 複合体、WASP ファミリータンパク質を介したアクチン重合制御は、細胞の形態変化や遊走運動のみならず、生体内で起こる様々なアクチンの関わる局面に

において重要な働きを持っている。

しかしながら、WASPファミリータンパク質がArp2/3複合体を活性化することがどのようにしてアクチン細胞骨格形成に結びつくのかは明らかではなかった。本研究では *in vitro* のモデル系としてアクチンコメット形成系を用いて Arp2/3 複合体の活性化に伴う「枝分かれ」したアクチンフィラメント形成の制御がアクチン細胞骨格形成に重要であることを明らかにした。

アクチンコメットは枝分かれした多数のアクチンフィラメントからなる構造であり、細胞内の様々な局面で見られる。たとえば、細胞内小胞輸送や、病原体の感染に伴ってみられる病原体の細胞内運動である。このアクチンコメットのアクチンフィラメントの形態は細胞の先端で細胞運動などに伴ってみられる葉状仮足におけるアクチンフィラメントの形態と類似している。またアクチンコメットおよび葉状仮足とも WASP ファミリータンパク質、Arp2/3複合体がその形成に必要不可欠である。このことからアクチンコメット形成のメカニズムの解明は細胞運動などに伴うアクチン細胞骨格形成のモデル系となると考えられる。

アクチンコメット形成は WASP ファミリータンパク質の一つである N-WASP をポリスチレンのビーズにコーティングする事によって組織抽出液中で再現できる。この系は完全な *in vitro* 再構成系であるので様々な N-WASP 上の変異のアクチンコメット形成に対する影響を調べるのに適している。この系を用いて私は N-WASP のアクチンコメット形成に必要なドメインを明らかにした。それらは塩基性ドメインと Arp2/3 複合体の活性化ドメインである VCA ドメインであった (図 1)。

アクチンフィラメントに対する結合を超速心法によって検討したところ、塩基性ドメインが N-WASP のアクチンフィラメント結合ドメインであることを明らかになった。この活性により N-WASP がアクチンフィラメントに結合することは Arp2/3 複合体をアクチンフィラメント上に集積させ、特に細胞にあらかじめ存在すると考えられる古い (*pre-existing*) アクチンフィラメント上の枝分かれを促進する (図 2、3)。枝分かれの促進は、生理的な条件でのアクチン重合の促進に重要である。生理条件では、自然発生的なアクチン重合を抑制するために capping タンパク質が多量に存在し、アクチンフィラメントの伸長する端 (反矢じり端) の露出を防いでいる。このため、新たに重合が開始されても、すぐに capping タンパク質によって、アクチン重合が抑えられる。Arp2/3 複合体、および、WASP ファミリータンパク質による枝分かれしたフィラメントの形成は capping タンパク質を回避しつつアクチン重合を起こすために重要である。このため、枝分かれの促進は

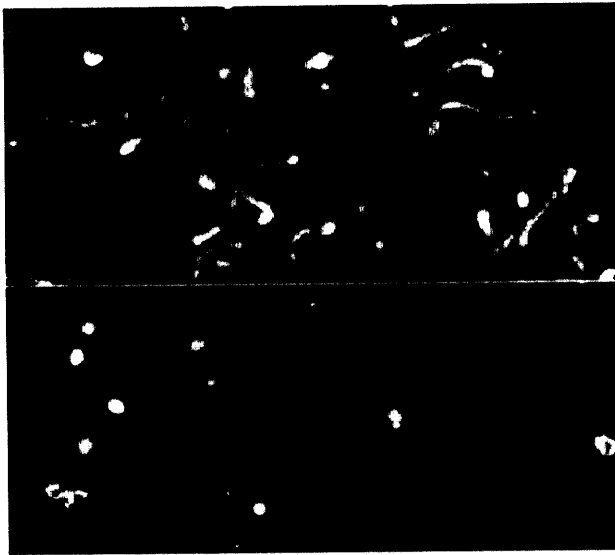


図1 野生型N-WASP (上段) および塩基性領域欠失変異体 (下段) をコートしたビーズによるアクチンコメット形成

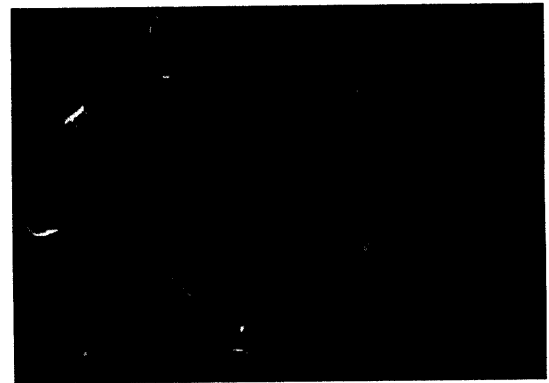


図2 N-WASPとArp2/3複合体によって形成される枝分かれしたアクチンフィラメント

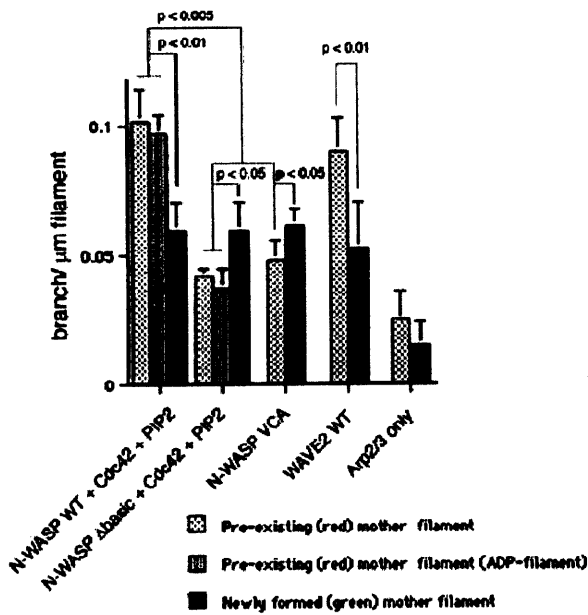


図3 古いアクチンフィラメントおよび新しく形成されたアクチンフィラメント枝分かれの頻度

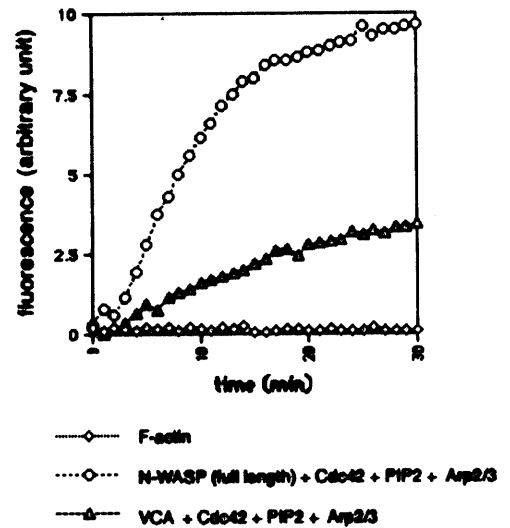


図4 cappingタンパク質存在下でのアクチン重合

生理的な条件下でのアクチン重合に重要である。つまり、枝分かれの頻度が高い(full length N-WASPの方が枝分かれの頻度が低いVCAのみの変異体よりも)ほどcappingタンパク質存在下でのアクチン重合が速い(図4)。この結果、N-WASPはアクチンフィラメントの高密度な構造を形成する事ができると考えられる。高密度なアクチンフィラメントは、力の発生のための足場となり、アクチン細胞骨格形成に寄与していると考えられる。

- 1: **Suetsugu S**, Miki H, Takenawa T. Cell Motil. Cytoskeleton in press
- 2: **Suetsugu S**, Miki H, Yamaguchi H, Obinata, T. Takenawa T. J.Cell Sci, in press
- 3: **Suetsugu S**, Miki H, Takenawa T. J Biol Chem. 2001 Aug 31;276(35):33175-80.
- 4: **Suetsugu S**, Miki H, Yamaguchi H, Takenawa T. Biochem Biophys Res Commun. 2001 Apr 6;282(3):739-44.
- 5: Fukuoka M, **Suetsugu S**, Miki H, Fukami K, Endo T, Takenawa T. J Cell Biol. 2001 Feb 5;152(3):471-82.
- 6: Miki H, Yamaguchi H, **Suetsugu S**, Takenawa T. Nature. 2000 Dec 7;408(6813):732-5.
- 7: Yamaguchi H, Miki H, **Suetsugu S**, Ma L, Kirschner MW, Takenawa T. Proc Natl Acad Sci U S A. 2000 Nov 7;97(23):12631-6.
- 8: Mimuro H, Suzuki T, **Suetsugu S**, Miki H, Takenawa T, Sasakawa C. J Biol Chem. 2000 Sep 15;275(37):28893-901.
- 9: **Suetsugu S**, Miki H, Takenawa T. FEBS Lett. 1999 Sep 3;457(3):470-4.
- 10: **Suetsugu S**, Miki H, Takenawa T Biochem Biophys Res Commun. 1999 Jun 24;260(1):296-302.
- 11: Miki H, **Suetsugu S**, Takenawa T. EMBO J. 1998 Dec 1;17(23):6932-41.
- 12: **Suetsugu S**, Miki H, Takenawa T. EMBO J. 1998 Nov 16;17(22):6516-26.