

戦略的国際科学技術協力推進事業（日本－フランス研究交流）

1. 研究課題名：「膜近傍でのアクチン重合核形成反応のメカニズム：構造生物学的研究」
2. 研究期間：平成23年9月～平成27年3月
3. 支援額： 総額 14,450,000 円
4. 主な参加研究者名：

日本側（研究代表者を含め6名までを記載）

	氏名	所属	役職
研究代表者	前田雄一郎	理学研究科構造生物学研究センター	特任教授
研究者	成田哲博	理学研究科附属構造生物学研究センター	准教授
研究者	瀧口金吾	理学研究科生命理学	助教
研究者	前田佳代	理学研究科附属構造生物学研究センター	研究員
研究者	滝口陽子	理学研究科附属構造生物学研究センター	研究員
研究者	武田修一	理学研究科附属構造生物学研究センター	研究員
研究期間中の全参加研究者数		9名	

相手側（研究代表者を含め6名までを記載）

	氏名	所属	役職
研究代表者	Carlier	CNRS	DRCE
研究者	Renault	CNRS	CR1
研究者	Le Clainche	CNRS	CR1
研究者	Romet-Lemonne	CNRS	CR1
研究者	Jegou	HFSP	Postdoc
研究者	Al Kilani	ERC	Postdoc
研究期間中の全参加研究者数		13名	

5. 研究・交流の目的

すべての細胞機能の原因は複数種類の蛋白質間の結合・構造変化・解離です。このような蛋白質間相互作用を詳しく知るためには各蛋白質の配置と蛋白質複合体の構造を知る必要があります。細胞は蛋白質アクチンの働きで動きますが、細胞運動のメカニズムを解明するにはアクチン線維分岐網目構造を知る必要があります。この網目構造ではアクチン線維の一端で重合が、他端で脱重合が起き、網目構造全体が前方を推しながら移動します（アクチン・トレッドミリング分子運動）。本研究の目的は、アクチン線維分岐網目構造の全体を解明すること、特にその先端が膜（など）を推す部分の構造を解明することによって、アクチン・トレッドミリング運動のメカニズムを解明することです。そのためにアクチン・トレッドミリングの速度論的解析の専門家であるフランスの Carlier 研究室と私たちの研究室、さらにこの網目構造解明の専門家である Wien の Small 研究室が共同研究を行いました。

6. 研究・交流の成果

6-1 研究の成果

まず、**課題1**として、細胞の葉状仮足中のアクチン線維分岐網目構造の全体を電子線トモグラフィ法という構造解析法を用いて解明しました。これによって深さ方向 0.5 μm 、水平方向 200 μm 四方に広がる網目構造を構成するアクチン線維の一本一本がどちら向きか、分岐点がどこにいくつあるか、分岐点に存在する蛋白質は何であるか、などを詳しく解明できました。しかしこの方法では膜を壊したために推力作用点である網目構造と膜の接点の構造は解明できませんでした。(論文1, 論文2: この部分は Wien の Small 研と当グループの共同研究です)。

課題2として、バキュロ・ウイルスが細胞内を遊泳するとき形成する「コメット尾」の全構造を解明しました(図1)。この「コメット尾」と葉状仮足のアクチン線維分岐網目構造は同一構造で、同一メカニズムで動きます。しかし「コメット尾」は網目構造を形成するアクチン線維先端がウイルス本体を推す推力作用点を観測できるという利点があります。この研究によって、網目構造は時間平均で4本のアクチン線維がウイルス本体を推すこと(図2)、アクチン線維はその先端がウイルス本体を推すのみではなく、アクチン線維をウイルス本体に繋留する構造が他にあるに違いないとの結果を得ました。しかしその繋留する構造を具体的に解明することはできませんでした。(論文3: この部分はフランスの Carlier 研、Wien の Small 研、当研究グループの3研究室の共同研究です)。

以上で当初の目標は達成したのですが、さらに**課題3**としてフランスの Carlier 研と共同で、もう一つの研究課題への取り組みを開始しましたが、これは時間切れとなりまだ達成していません。今後共同研究を続けます。

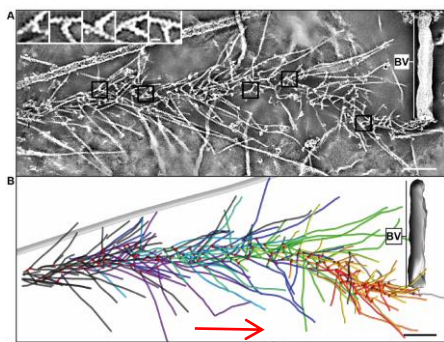


図1: (上図)バキュロウイルス本体(右端の棒状物体)とそれに伴うコメット尾の負染色電子トモグラム写真。(下図)上図のアクチン線維のトレース。赤丸は分岐部。赤矢印はウイルス本体+コメット尾の進行方向。バーは 100 nm (論文3: Mueller et al, 2014)。

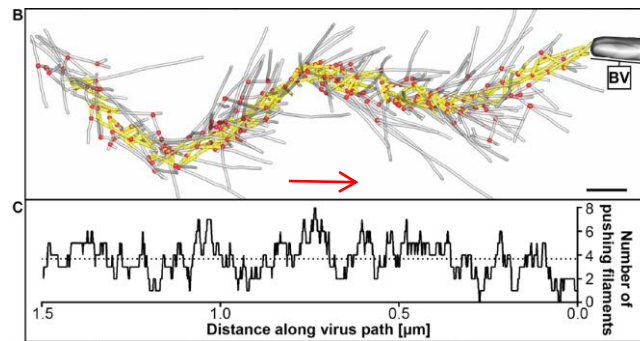


図2: (上図)バキュロ・ウイルス本体(右端)とそれに伴うコメット尾の電子線トモグラムから得たアクチン線維のトレース。赤丸は分岐部。軸のまわりの黄色部分はウイルス本体断面が通過したと考えられる部分。赤矢印はウイルス本体+コメット尾の進行方向。(下図)上図の黄色のアクチン線維の数の長さ方向への分布。バーは 100 nm (論文3: Mueller et al, 2014)。

6-2 人的交流の成果

課題2の研究での3研究室の共同作業は絶妙でありました。3研究室は研究目的と意義の理解を共有したうえでそれぞれが他では代替できない役割を担いました。Carlier 研は「コメット尾」の研究での長年の蓄積と経験に基づき、試料決定を主導し、また要所要所で重要なアドバイスをしました。Small 研は試料調製技術とトモグラム撮影技術を**課題1**から開発してきており、これは国際的にも現在最高の技術となっています。当グループは画像解析を全面的に分担し、国際的に only one とされる技術を開発して大きな貢献をしました。**課題2**の研究のために2名の研究者が1週間にわたって Wien に滞在し、試料調製・トモグラム撮影・トモグラム解析の3段階を連関を意識しながら全体として最適化する重要な作業を実行しました。

課題3の準備活動として研究員1名がパリ郊外の Carlier 研に滞在し、micro-fluidics

の理論と実験について先方との議論をしてきました。

この双方において、若い研究者が国際的共同研究の現場の経験を積んだのは当研究グループにとっても本人たちの今後の研究活動にとっても大きな財産となりました。

7. 本研究交流による主な論文発表・主要学会での発表・特許出願

論文	・論文の場合： 著者名、タイトル、掲載誌名、巻、号、ページ、発行年、DOI	特記事項
論文1	Vinzenz M, Nemethova M, Schur F, Mueller J, Narita A, Urban E, Winkler, C, Schmeiser C, Koestler S A, Rottner K, Resch G P, Maeda Y, Small J V. (2012) “Actin branching in the initiation and maintenance of lamellipodia”. <i>J Cell Sci.</i> 125:2775-85.	
論文2	Narita A, Mueller J, Urban E, Vinzenz M, Small JV, Maeda Y. (2012) “Direct determination of actin polarity in the cell”. <i>J Mol Biol.</i> 419:359-68.	
論文3	Mueller J, Pfanzelter J, Winkler C, Narita A, Le Clainche C, Nemethova M, Carlier, M. F, Maeda, Y, Welch, M. D, Ohkawa, T, Schmeiser, C, Resch, G. P, Small, J. V.(2014) “Electron tomography and simulation of baculovirus actin comet tails support a tethered filament model of pathogen propulsion.” <i>PLoS Biol.</i> 12:e1001765.	