

## I-BARドメインタンパク質MIMの分子機構の解明

ヘルシンキ大学 バイオテクノロジー研究所

千住 洋介

### 研究の目的

I-BARドメインタンパク質は、三日月形の2量体を形成し、凸面が塩基性アミノ酸に富んでいるため正に帯電している。したがって、負に帯電した脂質膜と凸面で静電相互作用により結合し、フィロポディアなど、細胞膜の突出機構に関与する (Saarikangas and Lappalainen et al., 2009)。I-BARドメインタンパク質として、がん転移抑制タンパク質であるMIM (Missing-in-metastasis) が知られている。MIMは、細胞内でフィロポディア形成に関与していることが留学先によって明らかにされていたが (Mattila and Lappalainen et al., 2007)、さらに、上皮細胞における細胞間接着のアドヘレンスジャンクション (AJ) にMIMが関与していることが示唆されていた (Saarikangas and Lappalainen et al., 2011)。AJは、他の部位に比べて局所的に細胞膜の曲率が変化していると考えられるので、AJでMIMが機能しているという作業仮説を検証することは妥当であり、新しい試みであった。しかしながら、膜の曲率を認識、あるいは生成するI-BARドメインタンパク質が、AJでどのような機能を果たしているか明らかにされていなかった。したがって、**I-BARドメインタンパク質MIMについて、先駆的な実験が実施されている留学先で、AJにおける機能を明らかにし、がんなどの疾患の治療法の開発に応用することを研究目的とした。**

### 研究成果

- (1) AJにおけるMIMの相互作用分子をプロテオーム解析で探索した。タンパク質複合体の解析のための精製方法は、アフィニティータグを用いてタンパク質複合体を精製し、その精製分画に含まれるペプチドを質量分析によって同定した。その際、特異性を高くし、再現性をよくするため、まず、アフィニティータグで標識したMIMの安定発現株をMDCK細胞で樹立した。その後、精製度を上げるためにエピトープタグはタンデムにつなげて、2段階で精製した。この方法によって、MIMの相互作用分子を、網羅的に、高感度で、しかも再現性が高く同定することができた。その結果、種々のアクチン制御タンパク質を含むMIMの相互作用分子を同定した。
- (2) MDCK細胞のAJにおける、MIMと、その相互作用分子の局在を蛍光顕微鏡と電子顕微鏡で調べた。その際、AJに局在するカドヘリンとの共局在を確認した。

これらの結果から、AJの形成機構、分子集積、形態的な意義を、膜の曲率という観点から説明でき、過去に例のない新しい概念を創出すると考えられる。そして、上皮細胞の極性形成におけるI-BARドメインタンパク質の新しい機能が明らかになった。

### 謝辞

本研究は公益財団法人アステラス病態代謝研究会海外留学補助金の助成を受けたものです。この場をお借りして深く感謝申し上げます。

### 研究業績

#### 学術雑誌等に発表した論文

Saarikangas J, Kourdougli N, **Senju Y**, Chazal G, Segerstråle M, Minkeviciene R, Kuurne J, Mattila PK, Garrett L, Hölter SM, Becker L, Racz I, Hans W, Klopstock T, Wurst W, Zimmer A, Fuchs H, Gailus-Durner V, Hrabě de Angelis M, von Ossowski L, Taira T, Lappalainen P, Rivera C, Hotulainen P. MIM-Induced Membrane Bending Promotes Dendritic Spine Initiation. *Dev Cell*. 2015 Jun 22;33(6):644-59.

#### 国際会議における口頭発表

Nordic Network For Dynamic Biomembrane Research 2012年9月13日 Regulation of the actin cytoskeleton – plasma membrane interplay