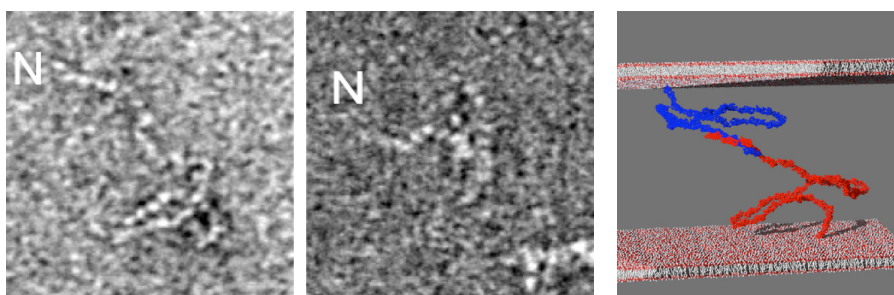


## 大きな図体を折り曲げる - 巨大カドヘリンの不思議な戦略

2014年11月11日

カドヘリンは細胞膜を貫通するタンパク質で、細胞同士を接着させるために重要な働きをしている。動物の多細胞体制の根幹を担うだけでなく、組織形成や神経回路形成など、発生の様々な場面で重要な役割を果たす。カドヘリンの細胞外領域は棒状をしており、その先端部分を介して隣接細胞のカドヘリンと結合し、細胞を接着させる。カドヘリンには多様な種類があり、Fat および Dachous と呼ばれるカドヘリンは、互いに結合し、細胞の平面内極性や増殖を制御している。これら2つのカドヘリンは、標準的なカドヘリン(クラシカルカドヘリン)と比べて細胞外ドメインが極端に長く、どのようにして細胞間隙に収まっているのか謎だった。

理研 CDB の塚崎克和研究員（高次構造形成研究グループ、竹市雅俊グループディレクター）らは、Fat および Dachous の巨大な細胞外領域が折り畳まれ、細胞間隙に収まる仕組みを明らかにした。この研究成果は米科学誌 *PNAS* に 10 月 29 日付けでオンライン先行発表された。



Fat4 (左) と Dachous1 (中央) の電子顕微鏡像。いずれも N 末端側は真っ直ぐ伸びるが、C 末端側は折れ畳まっている。右は、弾性ネットワークモデルによって構築された Fat4 (赤) と Dachous1 (青) の 3 次元構造。

クラシカルカドヘリンの細胞外領域は、EC ドメインと呼ばれる単位がつなぎ目を介して 5 回繰り返す構造をとっている。このつなぎ目は  $\text{Ca}^{2+}$  と結合する CBM ( $\text{Ca}^{2+}$  binding motif) と呼ばれるアミノ酸配列を有する。CBM に  $\text{Ca}^{2+}$  が結合すると細胞外領域が伸びた構造になり、細胞接着を引き起こすが、 $\text{Ca}^{2+}$  がないと細胞外領域が不定形化し、細胞接着能を失う。一方、Fat と Dachous はそれぞれ EC ドメインを 34 個、27 個持っており、極端に長い。

塚崎らは、哺乳類の Fat4 と Dachous1 を精製して電子顕微鏡で観察したところ、細胞膜から遠い N 末端側は真っ直ぐ伸びているものの、細胞膜に近い C 末端側は複数箇所で鋭角状に折れ曲がっていることを発見した。そこで、これらのカドヘリンのアミノ酸配列を詳しく調べると、C 末端側の複数の CBM に変異が入っており、 $\text{Ca}^{2+}$  と結合できない可能性が示唆された。

そこで、クラシカルカドヘリンの一つ E カドヘリンの CBM 1 カ所を、Fat4 の変異 CBM に置き換え電子顕微鏡で観察したところ、置換部分に折れ曲がりが見られた。さらに、ゲル中の移動度を計る実験を行

ったところ、変異 CBM を持つ E カドヘリン、及び、Ca<sup>2+</sup>非存在下の野生型 E カドヘリンは、Ca<sup>2+</sup>存在下の E カドヘリンよりも移動速度が低下することがわかった。このことは、変異 CBM が Ca<sup>2+</sup>と結合できなくなった結果、細胞外ドメインに変形が生じていることを支持していた。

さらに彼らは、E カドヘリンの構造について、弾性ネットワークモデルによるコンピューターシミュレーションを行った。CBM に変異を導入すると、その箇所における折れ曲がりの自由度が増大し、電子顕微鏡の観察結果と一致することが判明した。この手法を Fat4 と Dachshous1 に適用することにより、電子顕微鏡像と合致する立体構造モデルを作出することにも成功した。また、別の実験により、Fat4 と Dachshous1 の結合には、N 末端側の 4 つの EC ドメインだけで十分であり、C 末端側が折れ曲がっていても結合に関係がないことが示唆された。

生体内での構造を調べるため、培養細胞や組織を用いた解析も行った。Fat4 と Dachshous1 をそれぞれ強制発現させた細胞を共培養すると、これら 2 種類の細胞が接触する面において、密着結合のすぐ上に Fat4-Dachshous1 の結合が形成されていた。電子顕微鏡で詳しく解析すると、Fat4-Dachshous1 結合が存在する細胞膜間隙は 47 nm 程度で、弾性ネットワークモデルによる折れ畳み構造がうまく当てはまるサイズだった。さらに、マウス胚の脳神経上皮における Fat4-Dachshous1 による細胞接着を観察し、細胞膜間隙が同様のサイズであることを確認した。

前述の通り、カドヘリンは通常 Ca<sup>2+</sup>を必要とする。しかし、Fat4、Dachshous1 の場合、細胞外領域の一部が Ca<sup>2+</sup>結合能を失うことでコンパクトに折れ畳まり、クラシカルカドヘリンが形成する細胞間接着に比べ、せいぜい 2 ~ 3 倍の大きさの間隙しか持たない接着構造が形成されることが明らかになった。竹市グループディレクターは、「なぜ、Ca<sup>2+</sup>結合能をわざわざ失ってまで折り畳まねばならないような巨大な構を持つのか、不思議です」と話す。また、「興味深いことに、Fat と Dachshous の大きさ、変異 CBM の位置は、隔たった動物種間で保存されています。今回明らかにされた折り畳みの仕組みは、これらの分子の生理的な機能と深く関わっているに違いありません」と語った。