



複雑な細胞内構造の起源に迫る！

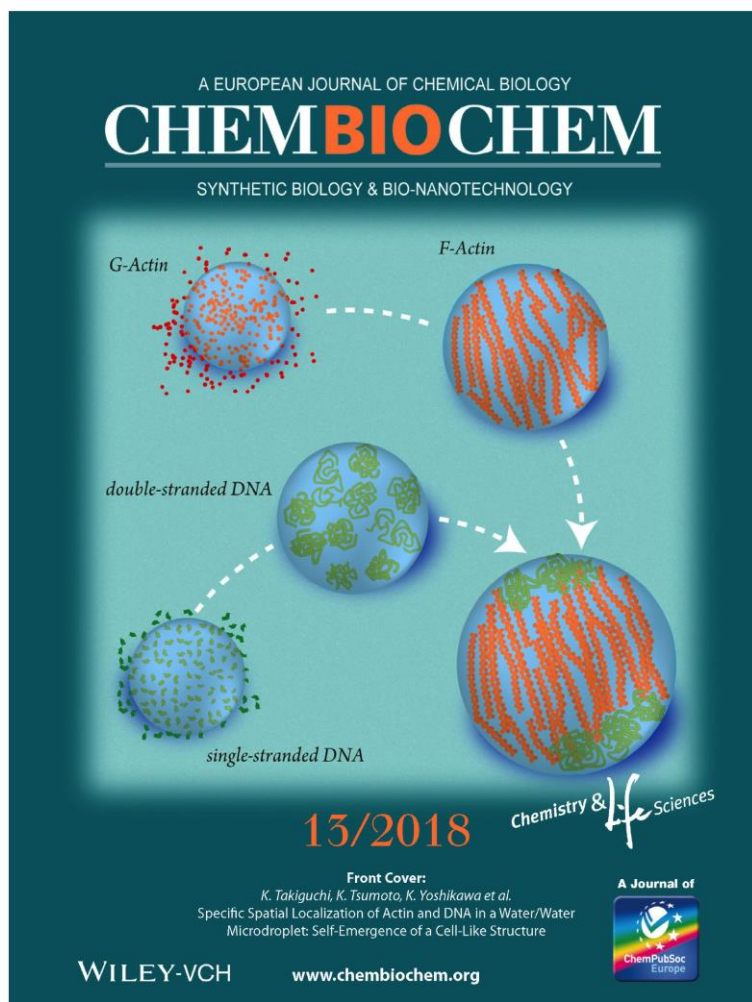
名古屋大学大学院理学研究科の 田中 駿介 博士前期課程 2 年、林 真人 研究員、瀧口 金吾 講師、同志社大学生命医科学部の 中谷 真規 大学院生、作田 浩輝 大学院生、吉川 研一教授、三重大学大学院工学研究科の 湊元 幹太 准教授らの共同研究グループは、数種類の高分子が混雑する溶液の中で、高分子同士が分離を起こして細胞サイズの微小な液滴を形成する条件の下、2 つの異なる天然の高分子（ポリマー）^{注1}である DNA とアクチン線維^{注2}が液滴の内部に自発的に局在化し、細胞内の構造に似た区画化が起きることを明らかにしました。

その成果をまとめた論文が、国際科学雑誌 *ChemBioChem* 誌のオンライン版に 2018 年 4 月 19 日付けで公開されましたが、この度、Very Important Paper の 1 つに選ばれ、研究内容を紹介するイラストが *ChemBioChem* 誌の 2018 年 19 巻 13 号の表紙に掲載されます。

この研究は、平成 24 年度から始まった文部科学省科学研究費助成事業新学術領域『分子ロボティクス』プロジェクトおよび平成 28 年度から始まった日本学術振興会科学研究費助成事業『人工細胞システムによる細胞情報クロストークの実現と細胞動態解析』等の支援のもとでおこなわれたものです。

【ポイント】

- ・数種類の高分子が混雑する溶液の中で、高分子同士が分離を起こして細胞サイズの微小な液滴を形成する条件の下、DNA とアクチン線維が液滴の内部に自発的に局在化し、細胞内の構造に似た重層的な区画化を起こすことが見出された。
- ・この発見によって、水溶液内で微小で重層的な区画化構造が形成され、維持されていく機構（細胞内におけるオルガネラ^{注3)}（細胞内小器官）の形成や膜によって隔てられていない構造が生み出される仕組みの起源）の一旦が明らかになった。
- ・オルガネラが生命活動で不可欠な働きをしていることは明らかになってきているが、細胞内の組織化がどのような機構で行われているのかは不明であった。本研究結果は、細胞内の混雑環境がオルガネラを含む細胞の自己組織化を創り出す要因となっていることを示した。
- ・この研究成果をまとめた論文が、国際科学雑誌 ChemBioChem 誌に掲載され、さらに、Very Important Paper (VIP)に選ばれた。【論文を紹介するイラストは ChemBioChem 誌の 2018 年 19 巻 13 号表紙（下図）に掲載】



【研究背景と内容】

近年、細胞内の複雑な構造（多様なオルガネラの形成や、各オルガネラ間の組織化された配置、顆粒などの膜によって隔てられていない領域など）が形成維持される機構について、相分離^{注4)}の視点から研究され始めています。

本研究では、液-液相分離 (LLPS)^{注4)}を示すことができる水溶性の高分子ポリマーであるポリエチレングリコール (PEG) およびデキストラン (DEX)^{注1)}の混合溶液を用いて、微小液滴が生成されることを示し、研究グループではそれを「細胞サイズの水性／水性微小液滴 (CAMD)」と呼ぶことにしました。このCAMDは、長い二重螺旋構造を形成しているDNAやアクチン線維を取り込み、偏在させることが分かりました。核酸であるDNAも、細胞骨格の1つであるアクチン線維も、生体内で重要な働きをしている天然高分子(バイオポリマー)です。このDNAやアクチンの局在化は、その分子サイズや構造、存在状態に影響されていました。DNAの場合は、それが一本鎖か二本鎖か、あるいは、その鎖長に関係し(図1)、アクチンの場合は、1個1個の単独の蛋白質の状態であるか、アクチン線維を形成しているかに関係していました(図2)。興味深いことに、二本鎖DNAとアクチン線維が同一のCAMD内に共存すると、DNAおよびアクチン線維は相互に排除し合って分布する場合があります(図3)。

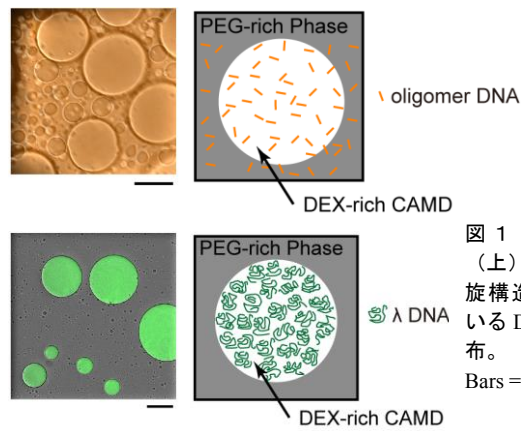


図1：短いDNA(上)と長い二重螺旋構造を形成しているDNA(下)の分布。
Bars = 100 μm。

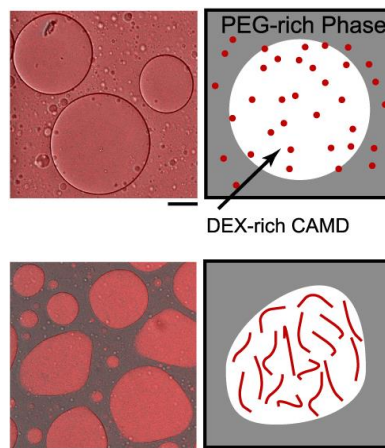


図2：単量体のG-Actin(上)と重合したF-Actin(下)の分布。
Bars = 50 μm。

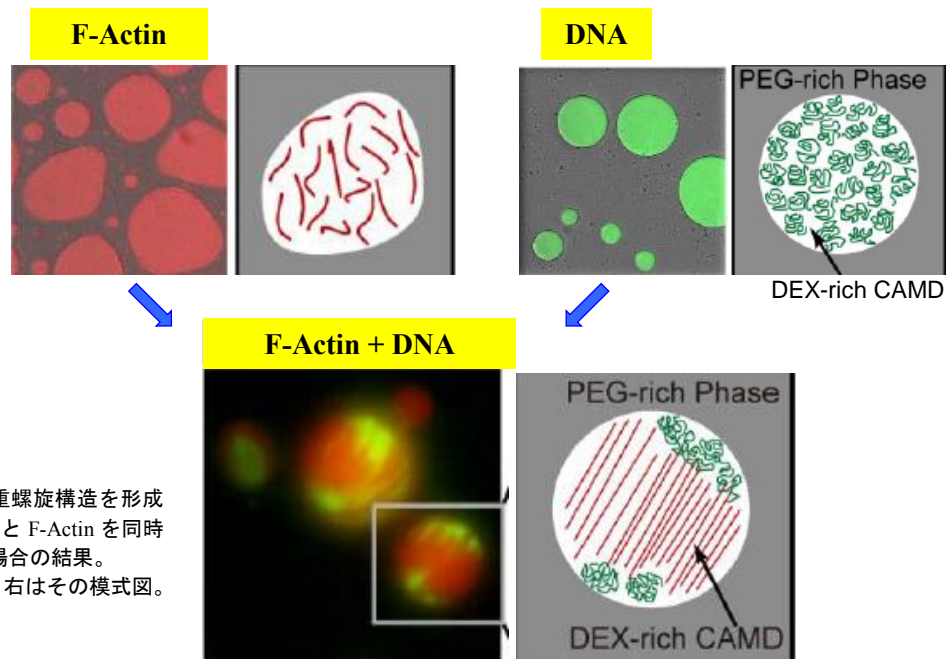


図3：長い二重螺旋構造を形成しているDNAとF-Actinを同時に系に加えた場合の結果。左は観察結果、右はその模式図。

これらの発見は、多種類の高分子の混合によって、細胞サイズの液滴内に更に細分化された微小区画が自発的に形成される可能性を示した研究結果であり、オルガネラの形成や膜によって隔てられていない構造の起源の一旦に迫る成果です。

【成果の意義】

これらの発見は、多種類の高分子の混合によって、細胞サイズの液滴内に更に細分化された微小区画が自発的に形成される可能性を示した研究成果です。

DNA もアクチン線維も、非常にダイナミックな天然生体高分子（バイオポリマー）です。様々な生体内の制御調節系によって、DNA は、その鎖長や折り畳まれ方が、アクチン線維^{注2)}は重合状態、単量体か繊維状か、そして、繊維状の場合、その長さおよび束の形成やネットワーク形成の有無などが制御されます。従って、今回見出された LLPS を介した高度な天然高分子の局在化もダイナミックで、その動きが制御可能と考えられます。

更に特筆すべきこととして、本研究で用いられたどの高分子（ポリマー）、PEG や DEX、DNA、アクチン線維も、酵素と基質との間に観られるような特異的な相互作用を互いに示さないことが挙げられます。このことは、生化学的な相互作用の効果を想定するこれまでの仮説には無いものであり、非常に重要です。

以上、本研究で得られた知見は、濃厚環境での生体高分子の在り様、細胞内に観察されるような重層的に区画された領域の形成やオルガネラの形成、特に膜によって隔てられていない構造の起源の一旦を明らかにした成果です。

【用語説明】

注1) 高分子（ポリマー）；

ある化学物質が、様々な結合を介して連なっていくことで、より大きな分子になったもの。一本の鎖状のポリマーもあれば、枝分かれしながら繋がっているポリマーもあります。

今回の研究で用いられたポリエチレングリコール（PEG）やデキストラン（DEX）は、その代表的なものです。

DNA は、ヌクレオチドが連なってできた天然のポリマーであり、アクチン線維もアクチンと呼ばれる蛋白質が繊維状に集まってできた一種の天然のポリマーと考えることができます。

注2) アクチン（Actin）、アクチン線維：

アクチンは細胞骨格蛋白質の1つです。単量体（蛋白質が1個1個、単独でいる状態）のG-アクチン（G-Actin）と呼ばれる蛋白質が互いに繊維状に結合していくこと（重合と言います）でアクチン線維ができます（図4）。アクチン線維は、F-アクチン（F-Actin）とも呼ばれます。細胞内では様々な調節系が存在しますが、その調節の下、アクチンの重合と脱重合、アクチン線維の伸長と短縮が制御されています。またさらに、線維同士を架橋する蛋白質によって、束の形成やネットワーク形成が細胞内でおこなわれています。

アクチンは筋収縮を担うことで有名で、細胞の形態形成や運動・分裂、細胞内での物質の輸送や分配繫留にも働いています。近年、核内にも見出され、その新たな生理学的役割が議論されています。

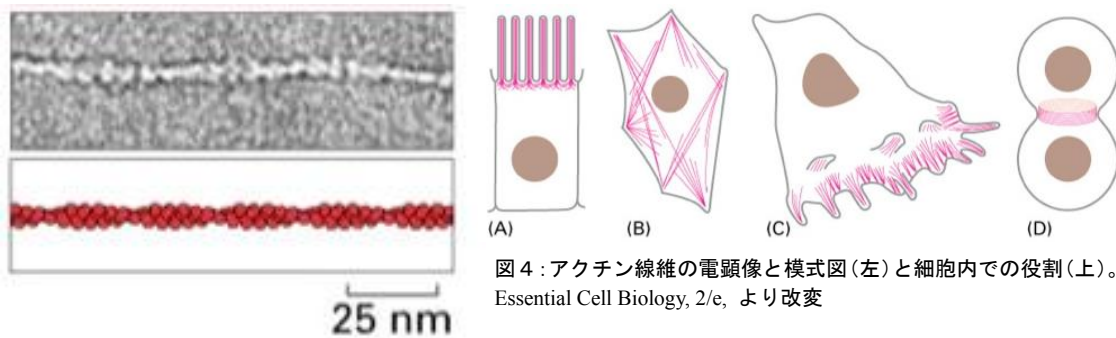


図4：アクチン線維の電顕像と模式図(左)と細胞内での役割(上)。
Essential Cell Biology, 2/e, より改変

注3) オルガネラ（細胞内小器官）：

細胞内に存在する核やミトコンドリア、ゴルジ体などの総称。多くのオルガネラは、膜によって外界から隔てられて、その構造や機能が維持されています。しかし近年、膜によって外部から隔てられていない領域・顆粒などが、細胞内で重要な働きをしていることが分かって来て、それらの形成維持機構が、オルガネラを含めた細胞内構造の組織化機構と共に議論される様になっていました。

注4) 相分離、液-液相分離 (Liquid-Liquid Phase Separation, LLPS)：

LLPSは、複数の水溶性高分子を混合し混雑化すると(図5 (a))、ある高分子が他の高分子よりも高濃度で存在する領域が水溶液中に現れる現象です。このように異なる領域に分かれていく現象を相分離と呼びます。そのようにしてできてくる領域ですが、混合の仕方によって液滴になります。特に微小な液滴を「細胞サイズの水性/水性微小液滴 (CAMD)」と名付けました。今回の研究では、PEGが濃く存在する溶液中に、DEXが濃く存在する CAMD (DEX-rich CAMD) が生じる条件下で実験が行われました(図5 (b))。

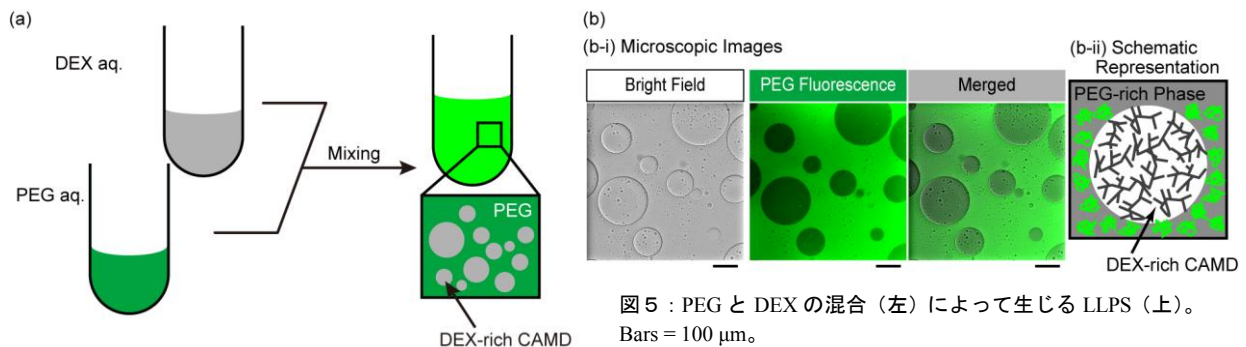


図5：PEGとDEXの混合(左)によって生じるLLPS(上)。
Bars = 100 μm。

【論文情報】

雑誌名：ChemBioChem 2018, 19 (13)

論文タイトル：“Specific Spatial Localization of Actin and DNA in a Water/Water Microdroplet: Self-Emergence of a Cell-Like Structure.”

著者：Naoki Nakatani, Hiroki Sakuta, Masahito Hayashi, Shunsuke Tanaka, Kingo Takiguchi, Kanta Tsumoto, Kenichi Yoshikawa.

論文本文 DOI: [10.1002/cbic.201800066](https://doi.org/10.1002/cbic.201800066)

雑誌表紙 DOI: [10.1002/cbic.201800297](https://doi.org/10.1002/cbic.201800297)