

## 細胞の生長に重要な細胞極性が維持される機構を超解像顕微鏡により可視化

～一時的な極性の確立を繰り返すことが鍵～

### 研究成果のポイント

1. 従来の蛍光顕微鏡では可視化できなかった極性マーカの挙動を、超解像顕微鏡により可視化することで、時空間的に制御された極性生長の過程を明らかにしました。
2. 一時的な細胞極性の確立が繰り返されることにより、時空間的に制御された極性生長の過程が効率的に引き起こされることがわかりました。
3. 細胞の極性生長において、どのように極性が維持されるのか、細胞生長の根本的原理の理解に繋がることが期待されます。

国立大学法人筑波大学 生命環境系 国際テニュアトラック助教 竹下典男(現在、カールスルーエ工科大学 応用微生物学科 グループリーダー兼任)および、カールスルーエ工科大学 応用物理学科の Ulrich Nienhaus教授らの研究グループは、超解像顕微鏡により、細胞の極性が維持される機構を可視化することに成功しました。

細胞の極性は、様々な細胞の機能に必須です。極性に従った生長により、機能に適した細胞形態が形成されます。具体的には、極性マーカが、極性部位を決定し、そこに向かって膜小胞が運ばれることにより、部位特異的な生長がもたらされます。しかし、膜小胞の融合によって形質膜が伸長する際、伸長する形質膜上でどのように極性マーカが拡散せず維持されるのかという疑問がありました。今回の研究は、従来の蛍光顕微鏡では可視化できなかった極性マーカの挙動を、超解像顕微鏡の一つであるPALM (photoactivation localization microscopy)<sup>1</sup>により明らかにしたものです。

この研究で明らかとなった主な点は、菌糸状の形態を持つ真菌(糸状菌 *Aspergillus nidulans*)<sup>2</sup>をモデルに、超解像を含む蛍光顕微鏡によるイメージングを用いて極性マーカの挙動を可視化し、エキソサイトーシス(膜小胞の形質膜への融合)や微小管との関わりを明らかにしたことです。細胞の極性は、微小管と形質膜の相互作用により一時的に確立されますが、エキソサイトーシスによる極性生長が起きる際に極性が拡散してしまうことが示されました。このような一時的な極性の確立を繰り返し、時空間的に制御された過程が繰り返されることで、極性生長が効率的に起こることが明らかになりました。また、数理モデルを用いたシミュレーション解析により、われわれのモデルの妥当性が支持されました。

本研究の成果は、2015年11月13日午後2時(日本時間14日午前4時)付「Science Advances」で公開される予定です。

## 研究の背景

細胞は均一な球体ではなく、一般に不均等な形状をしています。これは、広い意味で細胞の極性と呼ばれており、様々な細胞の機能に必須の性質です。極性に従った生長により、機能に適した細胞形態が形成されます。極性の確立と維持は、形質膜(細胞膜)上の極性マーカートンパク質、アクチン-微小管細胞骨格、膜小胞輸送による相互依存的な関わりによって制御されていることが明らかとなってきています。極性マーカが極性部位を決定し、そこに向かって膜小胞が運ばれることにより、部位特異的な生長(極性生長)がもたらされるのです。しかし、膜小胞の融合によって形質膜が伸長する際、伸長する形質膜上でどのように極性マーカが拡散せずに維持されるのかという疑問がありました。

本研究で使用している糸状菌は、その名の通り糸状の菌糸からなります。菌糸は、その先端を伸長させることで生長するため、その生長様式には菌糸先端での持続的な極性の維持が必要です。生長する菌糸は常に極性を先端に有するという特性を持つことから、糸状菌は極性と細胞形態との関わりを解析するのに適したモデルです。先端生長のために必要な膜脂質やタンパク質は、菌糸先端への分泌小胞の輸送とエキソサイトーシスによって、菌糸先端の形質膜に供給されます。膜輸送には、微小管とアクチン細胞骨格、そしてそれらに対応したモータータンパク質が中心的な役割を担っています。さらに、微小管は、極性マーカートンパク質(Cell-end marker; TeaA, TeaR)の菌糸先端への局在化に必要であり、Cell-end markerが、アクチンケーブルの局在とそれに続く小胞輸送とエキソサイトーシスを制御し、正常に先端生長が行われることが示されています(参考文献; Takeshita *et al.*, 2014)。

## 研究内容と成果

糸状菌 *Aspergillus nidulans* をモデルに、極性マーカ(Cell-end marker; TeaR)の挙動を、超解像顕微鏡によるイメージング技術により、生細胞内で直接可視化することに成功しました。極性マーカが形質膜上に一時的に集積し(約120 nm)、続いて形質膜上で拡散する様子が観察されました。エキソサイトーシスや微小管との関わりを解析することにより、微小管と形質膜の相互作用によって一時的に極性部位が確立されること、続いて起きるエキソサイトーシスによる形質膜の伸長(細胞の極性生長)の際に、極性マーカが形質膜上で拡散してしまうことが示されました。このように一時的な極性の確立が繰り返されること、極性生長の時空間的に制御された過程が繰り返されることにより、極性が効率的に維持され、極性生長が行われることが明らかになりました(図参照)。また、数理モデリングを用いたシミュレーション解析により、われわれのモデルの妥当性が支持されました。

## 今後の展開

細胞一般における細胞極性と形態形成の根本的な制御機構の理解に役立つことが期待されます。また、ある糸状菌群は動植物や農作物への病原性を示し、一方で、その高い酵素分泌能から食品、酵素生産などの産業で利用されている糸状菌もあります。糸状菌の感染能と高い分泌能は、菌糸状の形態と密接に関連していることから、糸状菌の極性生長の機構を解析することは、医薬・農薬開発上、さらには産業上への応用に繋がることも期待されます。

## 参考図

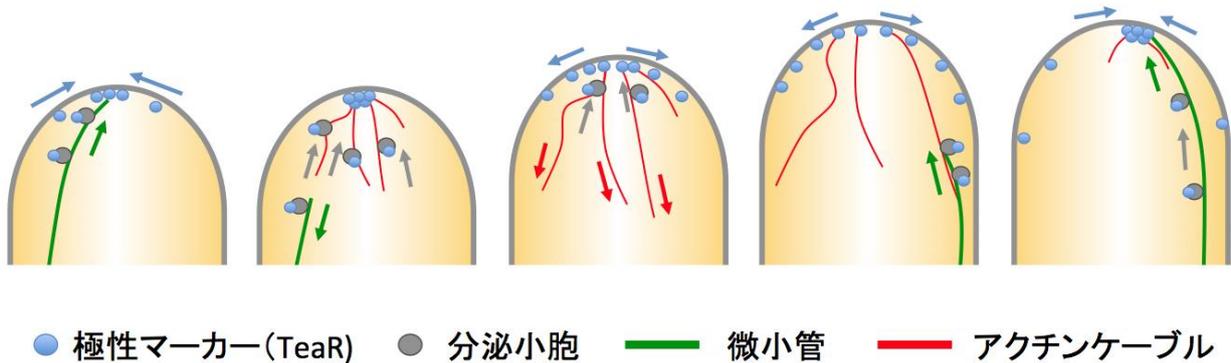


図 一時的極性モデル Transient polarity model

微小管が細胞先端の形質膜に到達し、極性マーカーが蓄積することで、極性部位が形成される。そこから、アクチンケーブルが形成され、小胞が極性部位に向かって輸送されることで極性生長が起こる。形質膜への膜の挿入により、極性マーカーが形質膜上で拡散するが、新たに微小管が到達することで、次の極性部位が形成される。細胞極性が、一時的な極性の確立を繰り返すことで維持される。

## 用語解説

注1) PALM (photoactivation localization microscopy)

蛍光を一つずつ確率的に光らせる技術と、蛍光標識した分子の位置をナノメートルの精度で計測する技術を組み合わせることによる、光の回折限界(200-300 nm)を超えた超解像顕微鏡法の一つである(回折限界;20-50 nm)。超解像顕微鏡の開発者には、2014年にノーベル化学賞が与えられている。

注2) 糸状菌 *Aspergillus nidulans*

糸状の菌糸で生活する真菌類に属する微生物で、一般的にカビと呼ばれている。動植物や農作物への感染で病原性を示すものがある一方で、麹菌をはじめ、醸造・発酵、有用酵素生産産業で利用されている糸状菌もある。*Aspergillus nidulans*は、糸状菌研究のモデル生物の一つである。

## 参考文献

Interdependence of the actin and the microtubule cytoskeleton during fungal growth.

Takeshita N, Manck R, Grün N, de Vega SH, Fischer R.

Curr Opin Microbiol. (2014) 20:34-41. Review.

## 掲載論文

【題名】 Super-resolution microscopy reveals a dynamic picture of cell polarity maintenance during directional growth.

(邦題: 超解像顕微鏡により極性生長における細胞極性維持の機構が解明された。)

【著者名】 Yuji Ishitsuka<sup>1</sup>, Natasha Savage<sup>2</sup>, Yiming Li<sup>1</sup>, Anna Bergs<sup>3</sup>, Nathalie Grun<sup>3</sup>, Daria Kohler<sup>1</sup>, Rebecca Donnelly<sup>2</sup>, G. Ulrich Nienhaus<sup>1,4,5</sup>, Reinhard Fischer<sup>3</sup> and Norio Takeshita<sup>3,6</sup>

<sup>1</sup>Institute of Applied Physics, Karlsruhe Institute of Technology (KIT), 76131 Karlsruhe, Germany.

<sup>2</sup>Department of Functional and Comparative Genomics, University of Liverpool, Liverpool, UK.

<sup>3</sup>Department of Microbiology, Karlsruhe Institute of Technology (KIT), 76187 Karlsruhe, Germany.

<sup>4</sup>Institute of Toxicology and Genetics, Karlsruhe Institute of Technology (KIT), 76344 Germany.

<sup>5</sup>Department of Physics, University of Illinois at Urbana-Champaign, Illinois 61801, USA.

<sup>6</sup>University of Tsukuba, Faculty of Life and Environmental Sciences, Tsukuba, Ibaraki 305-8572, Japan.

【掲載誌】 Science Advances

DOI: 10.1126/sciadv.1500947

## 問合わせ先

竹下 典男

筑波大学 生命環境系(国際テニユア助教)