

平成28年9月2日
JT 生命誌研究館

報道関係者各位

脊椎動物と昆虫の違いを、細胞間をつなぐ分子構造に発見 －原子間力顕微鏡で分子の形を直接観察－

JT 生命誌研究館（館長：中村桂子）の小田広樹主任研究員らの研究グループは、オリンパス株式会社研究開発グループの協力を得て、昆虫のからだ作りに重要な働きをもつ細胞間接着分子（E-カドヘリン）の分子形態を世界で初めて観察し、対応する脊椎動物分子には見られない球状構造を発見しました。

今回の発見は、脊椎動物と昆虫が共通祖先から誕生したそれぞれの進化過程で、多細胞体の形成と形作りに欠かせない、同種の細胞同士をつなぐ分子構造基盤に大きな変更があったことを意味するもので、多細胞動物の多様化の仕組みを理解することにつながる成果です。

本研究成果は、イギリス科学雑誌「ジャーナル・オブ・セル・サイエンス」（2016年9月1日付）に掲載されました。

雑誌名：Journal of Cell Science

論文名：Divergence of structural strategies for homophilic E-cadherin binding among bilaterians

著者：Shigetaka Nishiguchi, Akira Yagi, Nobuaki Sakai, Hiroki Oda

DOI: 10.1242/jcs.189258

掲載 URL: <http://jcs.biologists.org/content/129/17/3309>

<ポイント>

- 1) 昆虫のからだ作りに重要な細胞間接着分子（E-カドヘリン）の分子形態を世界で初めて観察。
- 2) オリンパス製の原子間力顕微鏡（BIXAM）で高精度の分子形態観察が実現。
- 3) 昆虫 E-カドヘリンに、対応する脊椎動物分子には見られない球状構造を世界で初めて発見。
- 4) 発見した球状構造が同種分子への特異的結合（ホモフィリック結合）に関わることを実証。
- 5) E-カドヘリンのホモフィリック結合の構造基盤について、脊椎動物と昆虫の違いを提示。

1. 背景

多細胞動物は、細胞と細胞をくっつける分子（細胞間接着分子^{*1}）の働きで多細胞体制が形成され、維持されています。なかでも、E-カドヘリン^{*2}と呼ばれる細胞間接着分子は、脊椎動物と昆虫に共通に存在し、上皮組織の構築、形態形成、そして恒常性維持に基本的な役割を果たしています。E-カドヘリンの最も重要な性質の一つは、ある細胞の表面に露出した E-カドヘリン分子が近くにある別の細胞の E-カドヘリン分子を結合相手として見分け、結合することです（ホモフィリック結合^{*3}）。E-カドヘリンのこの性質のおかげで、細胞は自律的に組織化することができます。E-カドヘリンのこの性質を支える分子構造基盤の研究は、これまで脊椎動物の E-カドヘリンにおいて活発に行われてきました。それらの研究によると、脊椎動物の E-カドヘリンがもつ、連続して並ぶ5つの反復領域（細胞外カドヘリンドメイン^{*4}）は全体として緩やかに曲がった棒状の形態をとっており、その先端の細胞外カドヘリンドメイン（細胞外カドヘリンドメイン1, EC1）が相手分子の細胞外カドヘリンドメイン1（EC1）を特異的に認識し、結合することが知られていました（図1A）。

ところが、脊椎動物と昆虫の E-カドヘリンは機能上同等の役割を果たすものの、遺伝子配列から予測される構造特徴には違いが存在しており、遺伝子進化の解析では、脊椎動物と昆虫の E-カドヘリンは14個以上の細胞外カドヘリンドメインを持つ共通の祖先分子から異なる領域を失って別々に進化してきたことが推測されていました（図2）。具体的には、昆虫 E-カドヘリンは7つの細胞外カドヘリンドメインをもつが、それらは脊椎動物 E-カドヘリンが持つ5つの細胞外カドヘリンドメインとは由来が異なることが指摘されていま

した。そのために、昆虫 E-カドヘリンが接着分子として機能するための構造基盤はほとんど全く理解されていませんでした。それでも、今回の研究グループの先行研究によって、ショウジョウバエ E-カドヘリンの先端側から6個の細胞外カドヘリンドメインがホモフィリック結合を仲介しうることが示されていました。

2. 今回の研究の内容

今回研究グループは、ショウジョウバエ E-カドヘリンの先端側6個の細胞外カドヘリンドメインをショウジョウバエの培養細胞に産生させて精製し、オリンパスが開発を進める原子間力顕微鏡^{*5} (BIXAM、ビグザム; <http://probe.olympus-global.com/jp/bixam/>) を用いて、その分子形態の観察を行いました(図3)。その結果、“頭部”と“尾部”にあたる2つの領域からなるオタマジャクシ様の分子形態が観察されました。詳細な解析を進めたところ、第1番目から第4番目の細胞外カドヘリンドメイン (EC1-EC4) が折れ曲がった状態で安定化して球状構造をとっており、それが“頭部”に相当していることが分かりました。一方、第5番目と第6番目の細胞外カドヘリンドメイン (EC5-EC6) が“尾部”を構成していました。さらに、ショウジョウバエのE-カドヘリンに加えて、コオロギとトビムシのE-カドヘリンを用いて、どの分子領域が同じ昆虫種のE-カドヘリン間のホモフィリック結合を仲介できるかを調べたところ、その球状構造をとっている領域 (EC1-EC4) と一致しました。とりわけ第2番目から第4番目の細胞外カドヘリンドメイン (EC2-EC4) に、ホモフィリック結合の特異性を決める主要因子が存在することが明らかになりました(図4)。

3. 今回の発見の意義

本研究では、細胞間を接着する境界面の分子構造に、脊椎動物と昆虫の違いがあることを発見しました(図1)。一般に動物分類では、からだの形態的特徴で動物グループを区分しますが、今回の発見では、からだの形態を作り出すために欠かせない基本細胞機能を担う分子の形態の違いがあることを明らかにしています。細胞は接着面を構成する E-カドヘリン分子を介して形作りを駆動する力を伝達し、必要に応じて、接着状態と離脱状態を制御します。そのため、多細胞動物が細胞間の接着面の構造基盤をどのように進化させたかは、からだの形作りの進化戦略とも関係してきます。今回の発見は、脊椎動物と昆虫が共通祖先から誕生したそれぞれの進化過程で、細胞間の接着面を作る分子構造基盤に大きな変更があったことを意味するもので、多細胞動物の多様化の仕組みを理解することにつながる成果です。

4. 今後の研究の展開

i) 今回の研究では精製した E-カドヘリン分子を基板上に張り付けて観察を行いました。実際に生体内で機能している状態を正確に把握するために、生体内の細胞間接着面の E-カドヘリン分子の構造を直接観察することが次の課題です。

ii) 昆虫と脊椎動物の E-カドヘリンは、共通の祖先カドヘリン分子から別々に進化してきたと考えられていますが、祖先型カドヘリン分子のホモフィリック結合がどのような構造基盤によるものかは不明なままです。構造多様化の元となった祖先状態の解明も今後の重要研究課題です。

[用語説明]

*1 細胞間接着分子：

細胞の表面に発現し、近接した細胞をくっつけて、細胞を集合させる活性をもつ分子の総称。

*2 E-カドヘリン：

細胞間接着分子のうち、クラシカルカドヘリンと呼ばれる分子群のひとつ。多細胞動物の上皮細胞で広く観察され、形態形成に主要な役割を果たすことが知られているアドヘレンスジャンクション(接着結合)と呼ばれる細胞間微細構造において、細胞膜間の連結と同時に細胞骨格との連結を担う分子である。脊椎動物と昆虫では、上皮組織に特異的な発現を示すことから上皮(Epithelium)の頭文字EをとってE-カドヘリンと呼ばれる。

*3 ホモフィリック結合：

同種分子間の親和性結合のこと。

*4 細胞外カドヘリンドメイン：

クラシカルカドヘリンを含め、カドヘリンと呼ばれる分子群の細胞外領域に共通して存在する、反復性をもつタンパク質領域。それぞれの細胞外カドヘリンドメインは約100個のアミノ酸から構成されており、進化的に保存された特徴的

な配列をもつ。

***5 原子間力顕微鏡：**

先端の尖った探針と試料表面の原子間に働く力を検出して、試料の凹凸を画像化する顕微鏡。先端が 10nm 以下まで尖った探針を使用することでタンパク質分子の形態を高い解像度で観察することができる。

<お問い合わせ先>

(本資料の内容に関するお問い合わせ)

JT 生命誌研究館 研究セクター 細胞・発生・進化研究室

主任研究員 小田広樹 (おだ ひろき)

E-mail: hoda@brh.co.jp

TEL: 072-681-9751 /FAX: 072-681-9757

URL: <http://www.brh.co.jp/kenkyu/lab04/>

(取材対応窓口、資料請求)

JT 生命誌研究館

事務セクター 宮脇 匠

TEL: 072-681-9750 /FAX: 072-681-9743

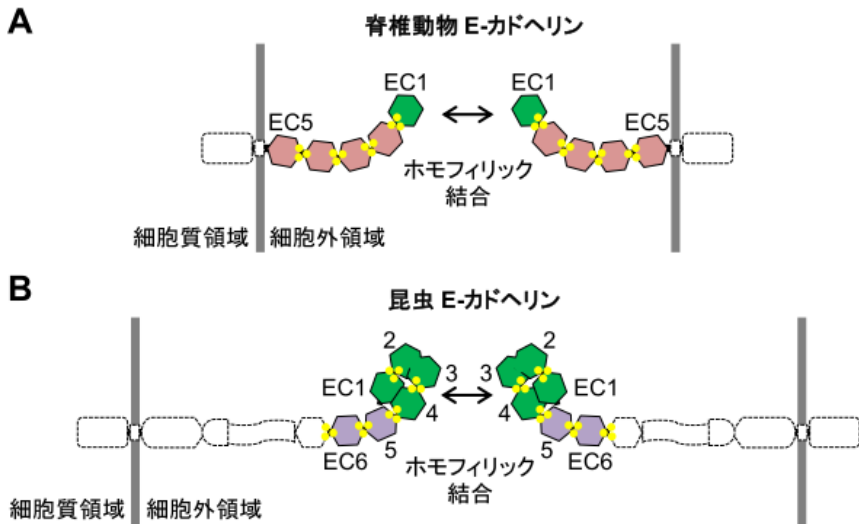


図1. 今回の研究で分かった細胞間をつなぐ分子構造における脊椎動物と昆虫の違い. (A) 脊椎動物 E-カドヘリンの構造. (B) 昆虫 E-カドヘリンの構造. 緑色で示した細胞外カドヘリンドメイン (EC) がホモフィリック結合の特異性を決めている. 昆虫 E-カドヘリンの EC1-EC4 は球状構造をとっており、その領域が結合特異性の決定に関わることが分かった.

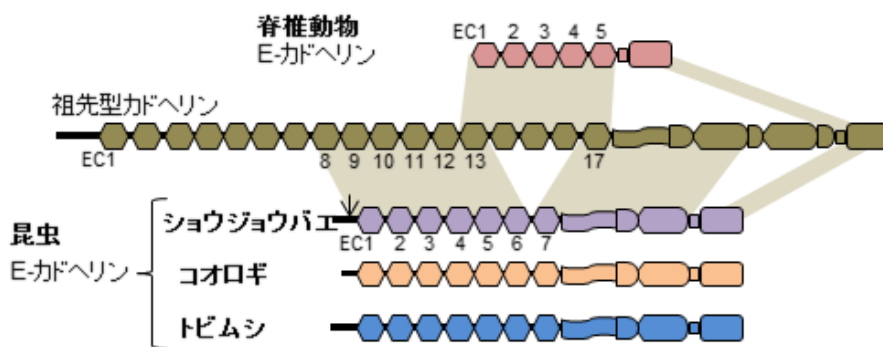


図2. 祖先型カドヘリンと脊椎動物 E-カドヘリン、昆虫 E-カドヘリンの構造的関係. 昆虫と脊椎動物の E-カドヘリンは、共通の祖先カドヘリン分子から異なる細胞外カドヘリンドメインを引き継いで進化してきたと考えられている.

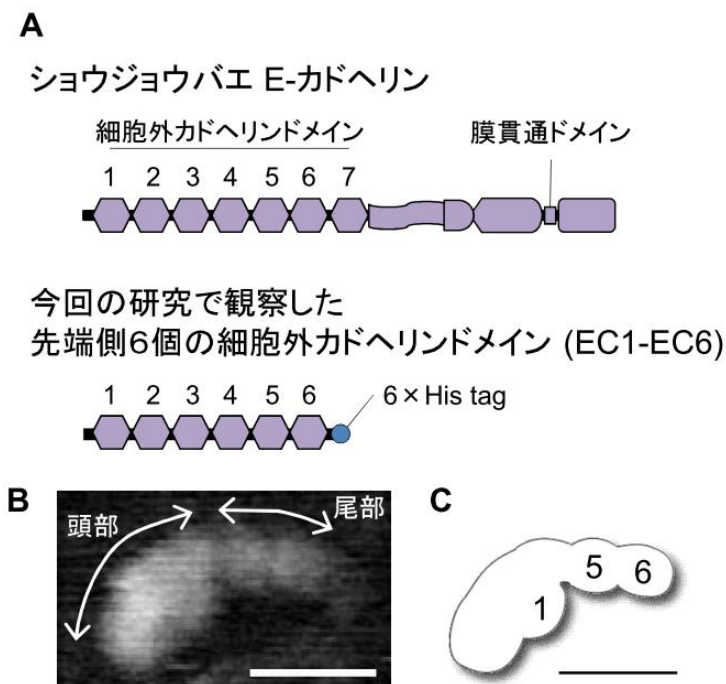


図3. 原子間力顕微鏡で観察されたショウジョウバエ E-カドヘリンのオタマジャクシ様の分子形態. (A) ショウジョウバエ E-カドヘリン全体の構造特徴 (上) と今回の研究で観察した細胞外カドヘリンドメイン EC1-EC6 (下). (B) EC1-EC6 の原子間力顕微鏡像. 頭部と尾部からなるオタマジャクシ様の分子形態が見られた. (C) 観察された EC1-EC6 の分子形態を模式的に表した図. 頭部では、EC1-EC4 が折れ曲がった状態で安定な球状構造をとっていることが分かった.

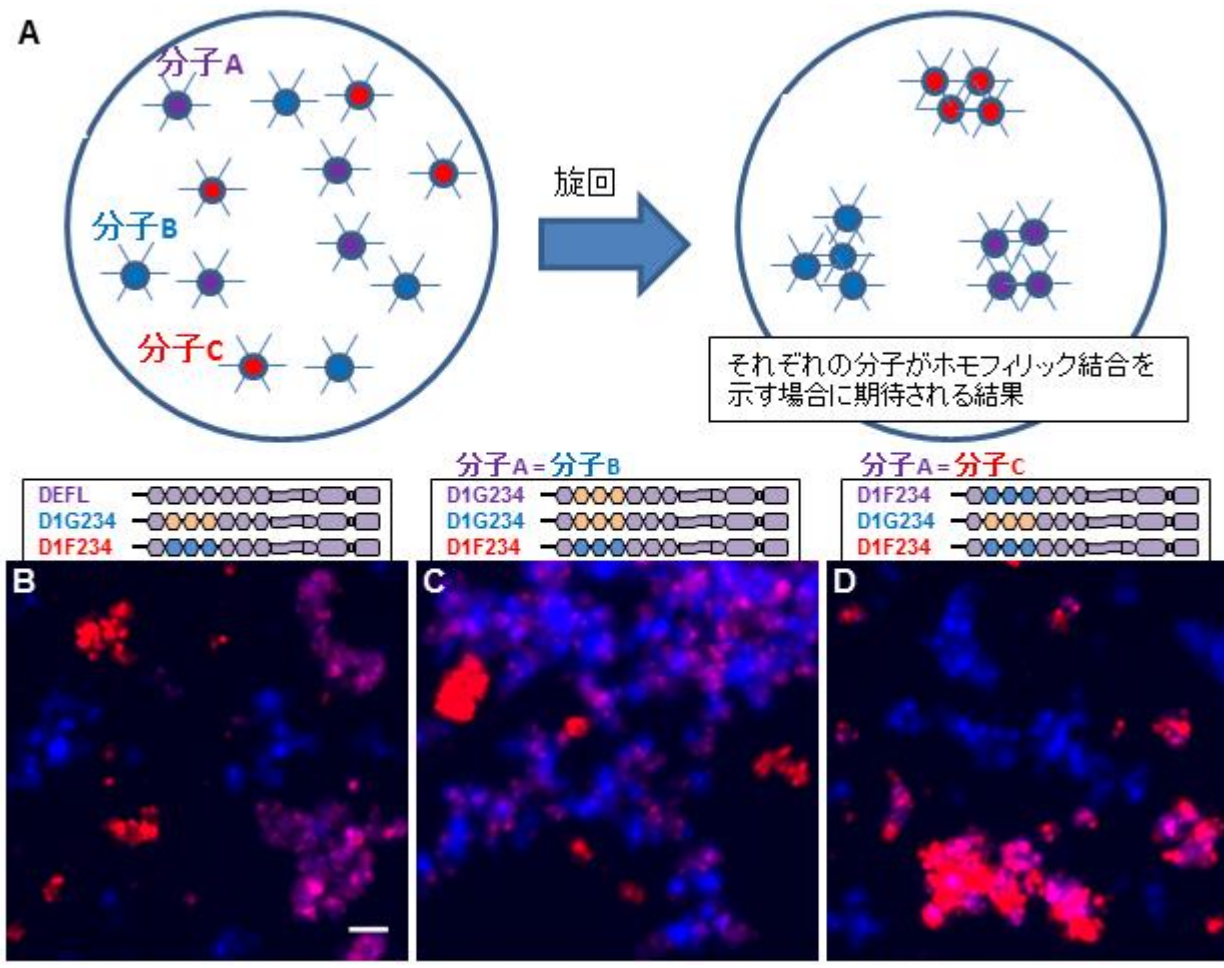


図4. ショウジョウバエ、コオロギ、トビムシの E-カドヘリンのホモフィリック結合の特異性がそれぞれの分子の EC2-EC4 の領域で決まることを示した細胞集合実験。(A) 実験の原理を説明する模式図。丸で細胞を表す。異なる3つの色でラベルされた細胞に E-カドヘリン分子 A, 分子 B, 分子 C が発現している。それぞれの分子が特異的なホモフィリック結合を示す場合、旋回によって同じ色の細胞が集合塊を作ることになる。(B) では、E-カドヘリン分子の EC2-EC4 の領域だけが異なる3種類の分子(紫、ショウジョウバエ; オレンジ、コオロギ; 青、トビムシ)で、3色別々の細胞塊が形成された。(C, D) は対照実験。