

研究成果報告書

セブチン系細胞骨格の重合・脱重合メカニズムの解析

16570158

平成 16 年度～平成 17 年度科学研究費補助金
(基盤研究(C)⁽²⁾)研究成果報告書

京都大学図書

8 年 5 月



1060667749

附属図書館

木 下 専

京都大学大学院 医学研究科 助教授

平成 18 年 5 月 2 日 作成・提出

平成 17 年度科学研究費補助金(基盤研究(C)(2))研究成果報告書

研究課題名 セブチン系細胞骨格の重合・脱重合メカニズムの解析

課題番号 16570158

研究組織

研究代表者 木下 専 京都大学大学院 医学研究科 助教授

研究協力者 猪原匡史 京都大学大学院 医学研究科 研究員

研究協力者 北野 歩 京都大学大学院 医学研究科 教務補佐員

研究協力者 谷垣 愛 京都大学大学院 医学研究科 教務補佐員

交付決定額 (配分額) (金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合 計
平成 16 年度	1,900,000	0	1,900,000
平成 17 年度	1,800,000	0	1,800,000
総 計	3,700,000	0	3,700,000

＜はしがき＞

セプチンは酵母からヒトまで保存された重合性 GTP 結合蛋白質ファミリーである。セプチン複合体は独特の環状自己集合性を有する一方、細胞膜直下に集合する特性も併せ持つフィラメントとして、微小管系やアクチン系に準ずる細胞骨格ポリマーの構成単位となる。セプチン系は、細胞膜のコンパートメント化、細胞質分裂における細胞膜形状の保持、シナプス伝達における小胞分泌の制御に関わることが知られているが、その制御機構には不明な点が多い。本研究は、このような生化学的・細胞生物学的問題に取り組むため、平成 16-17 年度科学研究費補助金（基盤研究（C）（2））を受けて行ったものである。

研究発表

(1) 学会誌等

1. 英文原著および総説

Kanda, H., Tanaka, T., Matsumoto, M., Umemoto, E., Ebisuno, Y., Kinoshita, M., Noda, M., Kannagi, R., Hirata, T., Murai, T., Fukuda, M., Miyasaka, M. : Endomucin, a sialomucin expressed in high endothelial venules, supports L-selectin-mediated rolling. **International Immunology** 16, 1265-1274, 2004

Ihara, M., Kinoshita, A., Yamada, S., Tanaka, H., Tanigaki, A., Kitano, A., Goto, M., Okubo, K., Nishiyama, H., Ogawa, O., Takahashi, C., Itohara, S., Nishimune, Y., Noda, M., Kinoshita, M.: Cortical organization by the septin cytoskeleton is essential for structural and mechanical integrity of mammalian spermatozoa. **Developmental Cell** 8, 343-352, 2005

Spiliotis, E. T., Kinoshita, M., Nelson, W. J.: A mitotic septin scaffold required for mammalian chromosome congression and segregation. **Science** 307, 1781-1785, 2005

Ono, R., Ihara, M., Nakajima, H., Ozaki, K., Kataoka-Fujiwara, Y., Taki, T., Nagata, K., Inagaki, M., Yoshida, N., Kitamura, T., Hayashi, Y., Kinoshita, M., Nosaka, T. : Disruption of *Sept6*, a fusion partner gene of *Mixed Lineage Leukemia (MLL)*, does not affect ontogeny, leukemogenesis induced by *MLL-SEPT6*, or the phenotype induced by loss of *Sept4*. **Molecular and Cellular Biology** 25, 24, 10965-10978, 2005.

Kinoshita M. Diversity of septin scaffolds. (In Cell structure and Dynamics Review Series, eds. V. Small and M. Glotzer) **Current Opinion in Cell Biology** 18, 54-60, 2006.

2. 和文総説

木下 専 細胞分裂と細胞形態形成における GTP 結合蛋白質セプチンの役割 生化学 印刷中

(2) 口頭発表

1. 国際学会における発表

Kinoshita, M.: The septin cytoskeleton is essential for the structural integrity and motility of the mammalian sperm, The 5th UK-Japan Cell Cycle Workshop (April 13-16, 2004, Nara, Japan).

Kinoshita, M.: Static and dynamic interaction between lipid bilayer and septin cytoskeleton, The 2nd Symposium on Molecular Soft Interactions at Biomembrane Interface (August 4, 2004, Suita, Japan).

Kinoshita, M.: The septin cytoskeleton is essential for structural and mechanical integrity of the mammalian sperm, Gordon Research Conference on Macromolecular Organization and Cell Function (August 15-20, 2004, Oxford, UK).

Spiliotis, E.T., Hunt, S., Kinoshita, M., Nelson, W.J.: Septin Function in Polarized Vesicle Traffic, The 44th American Society for Cell Biology Annual Meeting (December 4-8, 2004, Washington, D.C., USA).

Spiliotis, E.T., Kinoshita, M., Nelson, W.J.: Septins Co-ordinate Multiple Steps in Mammalian Cell Mitosis. The 44th American Society for Cell Biology Annual Meeting (December 4-8, 2004, Washington, D.C., USA).

Kinoshita, M. The 1st Septin Workshop. "The Lord of the Rings: The Return of the Ring" (May 28-31, 2005, Arhus, Denmark).

Hagiwara, A., Ihara, M., Yoshida, T., Tanigaki A., Kitano, A., Funabiki, K., Hirano, T., and Kinoshita, M. "Specific distribution of cytoskeletal septin proteins in retinal horizontal cell may play a role in contrast encoding" The 6th Workshop on Mechanism of Brain and Mind (August 20, 2005, Nagano, Japan)

Ihara, M. and Kinoshita, M. "Mice lacking Sept4 exhibit functional and morphological deficits in dopaminergic neurons." The 3rd Takeda Science Foundation Symposium on PharmaSciences (December 5-7, 2005, Tokyo, Japan)

Kinoshita, M. "Emerging roles of submembranous septin scaffolds in terminally differentiated mammalian cells" The 9th Membrane Research Forum (March 15-17, 2006, Kyoto, Japan)

Hagiwara A. and Kinoshita, M. "Light and electron microscopic analysis of the septin

cytoskeleton in the mouse brain” The 9th Membrane Research Forum (March 15-17, 2006, Kyoto, Japan)

2. 国内学会における発表

木下 専：セプチン系細胞骨格の破綻によるマウスおよびヒトの精子無力症、第 77 回日本生化学会大会、ワークショップ、(2004 年 10 月 16 日、横浜)

木下 専：がん・パーキンソン病・不妊症・肝障害におけるセプチン系の重要性、京都大学大学院医学研究科先端領域融合医学研究機構第 2 回シンポジウム (2005 年 3 月 6 日、京都)

白樫 義知、猪原 匡史、河本 恭裕、富本 秀和、木下 専、井関 栄三：変異型ヒト α シヌクレイン A53T 過剰発現マウス脳の免疫組織化学的検討、第 46 回日本神経学会総会 (2005 年 5 月 26 日、鹿児島)

木下 専、猪原匡史、萩原 明、James Monypenny、糸原重美、野田 亮：バーグマングリア特異的セプチン Sept4 は小脳構築と運動学習に必須である、第 78 回日本生化学会大会 ワークショップ「脳神経系の構築と機能分子」(平成 17 年 10 月 21 日、神戸)

萩原 明、木下 専、第 111 回日本解剖学会総会・全国学術集会「マウス神経系におけるセプチン細胞骨格の三次元超微形態学的解析」平成 18 年 3 月 29-31 日 (相模原)

3. セミナー・班会議・招待講演・広報活動等

木下 専、京都工芸繊維大学 ショウジョウバエ遺伝資源センター 第14回公開セミナー 「哺乳類精子の構造と運動におけるセプチン系細胞骨格の重要性」平成16年6月17日 (京都)

木下 専、独立行政法人科学技術振興機構 戦略的創造研究推進事業「生体分子の形と機能」領域会議「セプチン系細胞骨格の電子線構造解析」平成16年7月4日 (長浜)

木下 専、文部科学省特定領域研究「生命秩序の膜インタフェースを制御するソフトな分子間相互作用」班会議「セプチン系細胞骨格と脂質 2 重膜の相互作用の解析」平成16年8月3日 (吹田)

木下 専：独立行政法人科学技術振興機構戦略的創造研究推進事業CREST/PRESTOたんぱく質関連領域合同シンポジウム 「極低温電子線断層法によるセプチン系超分子構造体

の解析」平成16年12月21-22日（東京）

木下 専、奈良先端科学技術大学院大学分子発生生物学グループディスカッション”
Roles of the septin cytoskeleton in mammalian cerebellar development and
functions” (in English)、平成17年3月6日（生駒）

木下 専、独立行政法人科学技術振興機構 戦略的創造研究推進事業 「生体分子の形と
機能」第8回領域会議 「セプチン系超分子構造体の3次元再構成とX線結晶構造解析
の試み」平成17年6月18日（東京）

猪原匡史、萩原 明、木下 専、自然科学研究機構生理学研究所研究会 「行動学的ス
クリーニングによって見いだされた、セプチン欠損マウスにおけるドパミンニューロン
の異常」平成17年6月30日（岡崎）

木下 専、成人病の病因・病態の解明に関する研究会 「セプチン系の破綻によるパー
キンソン病、脂肪肝、精子無力症」平成17年7月9日（軽井沢）

木下 専、猪原匡史、神経科学研究会「セプチン系の破綻によるドパミンニューロンの
異常」平成17年9月17日（東京）

木下 専、独立行政法人科学技術振興機構 戦略的創造研究推進事業 「生体分子の形と
機能」第9回領域会議「セプチン系超分子構造体の3次元再構成とX線結晶構造解析の
試み」平成17年11月14-16日（東京）

木下 専、萩原 明、猪原匡史、文部科学省特定領域研究統合脳（第4領域「分子脳科
学」）冬の班会議 「バグマングリア突起とドーパミン神経終末におけるセプチンの機
能解析」平成17年12月21-23日（東京）

木下 専、祝迫恵子、波多野悦朗 文部科学省特定領域研究研究項目 A04「遺伝情報シ
ステム異常と発がん」領域ワークショップ「発がんにおけるセプチン蛋白質群の役割：
肝線維化・発癌モデルを用いた解析」平成18年2月17-18日（東京）

木下 専、第15回泌尿器科分子細胞研究会 イブニングセミナー 「セプチン細胞骨格
の破綻による精子無力症と染色体不安定化」平成18年2月24日（京都）

木下 専、科学技術振興調整費成果発表会 「セプチン系の破綻による精子無力症」平

成 18 年 3 月 25 日（東京）

（3）出版物

西山博之、木下 専：セプチン系細胞骨格と精子無力症. 医学のあゆみ 214巻 3号, 221-222, 2005

木下 専 再構成系と遺伝子破壊マウスによるセプチン系の解析 細胞工学 印刷中

研究成果による工業所有権の出願・取得状況

該当なし

研究成果のまとめ

以前の国際共同研究により、Cdc42 のアダプター蛋白質の 1 つ Borg3 がセプチン複合体と相互作用することを報告したが、Borg ファミリーの細胞内局在や機能に関しては全く知られていなかった。Cdc42-Borg 系がセプチンの重合や局在を制御している可能性を探索するため、Borg の抗体を作成して細胞内局在を明らかにし、RNA 干渉法で培養細胞の Borg を 90%以上枯渇させた。しかし予想外なことにセプチンの局在や集合状態、および他の主要細胞骨格系には影響が見られなかったため、引き続き Cdc42-Borg 系の細胞レベルでの機能を探索している。次いで、真のセプチン重合制御因子の探索を目的として、細胞抽出物から生化学的にセプチン結合性蛋白質を精製し、マスマスペクトロメトリー（フィンガープリンティング法）で同定した。その結果、特定のセプチンサブユニットが重要なシグナル系のアダプター分子と相互作用することが明らかとなった。現在その相互作用の細胞生物学的意義を過剰発現や RNA 干渉法などを用いて解析している（投稿準備中）。一方、これら細胞レベルの実験と並行して個体レベルの機能解析を行うために Sept4 遺伝子欠損マウスを作成したところ、予想外の雄性不妊から、精子鞭毛内の輪状小体がセプチンの環状高次集合体（セプチンリング）であり、その破綻によって生殖機能が失われることもわかった。同時にヒトの精子無力症検体でもセプチンリングの破綻を認め、その臨床的意義を確立した。