

頂端面膜内部ドメイン分化における Syndapin 遺伝子の機能解析

Syndapin contributes to subapical differentiation in *Drosophila* photoreceptors

広島大学 佐藤明子

我々の体を形作る細胞の多くは極性を持っており、その極性構造を形成・維持することがその機能に重要である。そのため、細胞や組織の持つ、頂底極性、平面内極性（水平極性）などの分子機構の解明は、細胞生物学の重要課題と考えられ、よく研究されている。一方、本研究のような頂端面の2つのドメイン(光受容膜とストーク膜)へのさらなる分化・極性化の研究例は極めて少ない。頂端面のさらなる分化は視細胞独自の現象ではなく、上皮細胞の中には、中央と周辺部が異なる領域となっている例は多数存在する。これまでにショウジョウバエ視細胞における頂端面のさらなる分化・極性化 (subapical differentiation) に関わる因子として Crb と Moesin が報告されている (Pellikka et al., 2002; Karagiosis, 2004)。

野生型視細胞の頂端面は、微絨毛膜の束が1つにまとまった光受容膜と周辺のストーク膜とに分かれている。私達の研究グループでは、EMS 処理したハエの F1 モザイク網膜の観察によって光受容膜構造に着目したスクリーニングを行い、光受容膜とストーク膜が分離せず、両者が頂端面全体に交じり合って存在する 661T 変異体を単離した。この頂端面を電子顕微鏡観察した所、微絨毛が部分的に接着しあって束になっているものの、全体としての束化が欠損していることがわかった。

661T 変異体における、この表現型の原因となる変異を同定した結果、Syndpin (Synd) 遺伝子に導入されたナンセンス変異であることがわかった。本研究では、この Synd と以前 subapical differentiation に必要と報告された Moesin について詳細な機能解析を行なった。

まず、間接蛍光抗体法により Synd と活性型のリン酸化 Moesin (p-Moe) が光受容膜の基部に局在することを示した。より精密に Synd の局在を知るために、超解像度顕微鏡 STORM による解析を行った結果、Synd が光受容膜を構成する微絨毛膜の基部に 50nm 間隔の 6 方最密充填を示すドット状に局在することを見出した。さらに、Synd と p-Moe の超解像レベルの二重染色に成功し、p-Moe が Synd のつくる 6 方格子状のドットの間位置していることを発見した。Synd の生化学的解析から、Synd がリポソームを湾曲させチューブ形成を促進することが知られているが、光受容膜を構成する微絨毛膜の基部は、高い曲率を持ったくびれ構造を形成しており、Synd がこのくびれ構造の形成に関わる可能性が高いと考えられた。そこで、Synd 欠損変異体の微絨毛膜の基部の膜の形状を電子顕微鏡により観察したところ、微絨毛膜の基部のくびれ構造が欠損していることを見出した。また、Moesin の欠損変異体でも、同様に微絨毛膜の基部のくびれ構造が欠損しており、synd と moe がくびり構造の形成を通じて微絨毛の束化を促進し subapical differentiation を誘導すると考えられた。さらに、synd^{661T}, moe^{PL54} 二重変異を作成して観察した所、この二重変異体の表現型が、synd^{661T} 単独変異の表現型とほぼ同等であり、両者が同一の過程で機能することがわかった。

また、ショウジョウバエ視細胞において Chp は光受容膜の微絨毛間の密着を確実にする機能をもつが (Van Vactor et al., 1988)、最近、Chp が subapical differentiation に必要である可能性が報告された (Gurudev et al., 2014)。その研究を追試した所、Chp 単独欠損では、微絨毛間の密着性は失われるが、subapical differentiation の欠損は非常にマイルドであることがわかった。ところが、synd^{661T}, chp² 二重変異では、synd^{661T} または chp² の単独変異と比較して、subapical differentiation の欠損表現型が著しく増強されていることを見出した。これは、Chp の機能が Synd, Moe の機能とは独立に subapical differentiation に必要であることを示している。この結果は、Synd, Moe による微絨毛膜の基部のくびれ構造の形成に加えて、Chp による微絨毛の接着が、正常な subapical differentiation に必要であることを示唆している。従って、Chp による微絨毛接着がもたらす直接の微絨毛束化と、Synd, Moe による微絨毛膜の基部のくびれ構造の形成による微絨毛の束化の 2 つの独立した機構が、正常な subapical differentiation を引き起こすのではないかと考えられた。