

細胞膜形態形成に関わるタンパク質と細胞骨格制御の研究

末次 志郎

生命の最小単位は細胞であり、細胞は水溶液の中に存在する。脂質二重膜によって細胞の内外が区別され、その内側で代謝活動を行うことによって細胞が成立する。したがって、脂質二重膜は生命の定義に関わる構造体である。生命を構成するほかの有機物（糖、タンパク質、核酸）は、重合して高分子となることができる。対照的に、脂質二重膜を構成する脂質は低分子として存在する。脂質二重膜を構成する両親媒性の脂質は、水中で疎水性相互作用により膜を形成する。したがって、両親媒性の脂質分子は相互に連結せず、定まった形態をとることはできない。しかしながら、細胞の形態は生物種あるいは細胞種によりさまざまである。また、細胞の中にはさまざまな膜構造が存在する。細胞の持つこれらの膜構造の形成は、主にタンパク質と脂質二重膜の相互作用によって行われると考えられる。細胞の形態は、大まかに細胞骨格によって制御され、マイクロメートル未満のサブミクロンスケールでは、脂質膜に直接相互作用するタンパク質によってなされると考えられる。本稿では、サブミクロンスケールでの BAR ドメインによる脂質膜の形態制御機構と、連動するアクチン細胞骨格制御機構について述べる。

1. はじめに

細胞は、数十から数百マイクロメートルの大きさで、分化や環境に応じて変化に富んだ形態をとる。細胞の形態は、細胞表面の多様な数十から数百ナノメートルのナノスケール構造、すなわち、陥入構造（クラスリン被覆小孔、カベオラなど）と突起構造（葉状仮足：ラメリポディア、糸状仮足：フィロポディアなど）の集合により構成されている。これらのナノスケール構造は非常に動的で、ホルモンや成長因子などの外部刺激に応答して、数秒から数分で形成、消失する。その形成と消失はアクチンフィラメントの形成と消失（アクチン重合と脱重合）に依存していることが知られていた。これらの細胞の形態を形成する脂質二重膜は、両親媒性の脂質により構成されている（図 1）。

2. 脂質膜

脂質 (lipid) は糖質、タンパク質と並んで生体を構成する主要な物質群である。脂質は通常、分子中に長鎖脂肪酸または類似の炭化水素鎖を持つ物質をさす。大きく分類すると脂肪酸、トリアシルグリセロール、グリセロリン脂質 (リン脂質)、スフィンゴ脂質、コレステロールの 5 種類がある。

細胞膜など生体膜を構成する脂質は、リン脂質、スフィンゴ脂質、コレステロールである。これらの生体膜を構成する脂質は疎水性の炭素鎖と、親水性の「頭」を持つ両親媒性の構造をとる。このため、水溶液中で親水性の部分を外に向け、炭素鎖を内側にした二重膜である脂質二重膜を作る。疎水性の部分はほとんどの極性分子（親水性分子など）を透過させないため、細胞内外を分ける有効な障壁となる^{1,2)}。

リン脂質には、ホスファチジン酸、ホスファチジルセリン、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルイノシトール (PI) がある²⁾。ホスファチジルセリンの親水性部分は負に帯電し、生体膜を特徴づける。リン脂質の中でも特にホスファチジルイノシトールはそのイノシトール環が PI キナーゼによってリン酸化修飾を受け、シグナル伝達分子として働く。代表的な例には、次のようなものがあげられる。リン酸化されたホ

奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科 (〒630-0192 奈良県生駒市高山町 8916-5)

Shaping the membrane at submicron scale by BAR proteins and the actin cytoskeleton

Shiro Suetsugu (Graduate School of Biological Sciences, Nara Institute of Science and Technology, 8916-5, Takayama, Ikoma, Nara 630-0192, Japan)

本総説は 2013 年度奨励賞を受賞した。

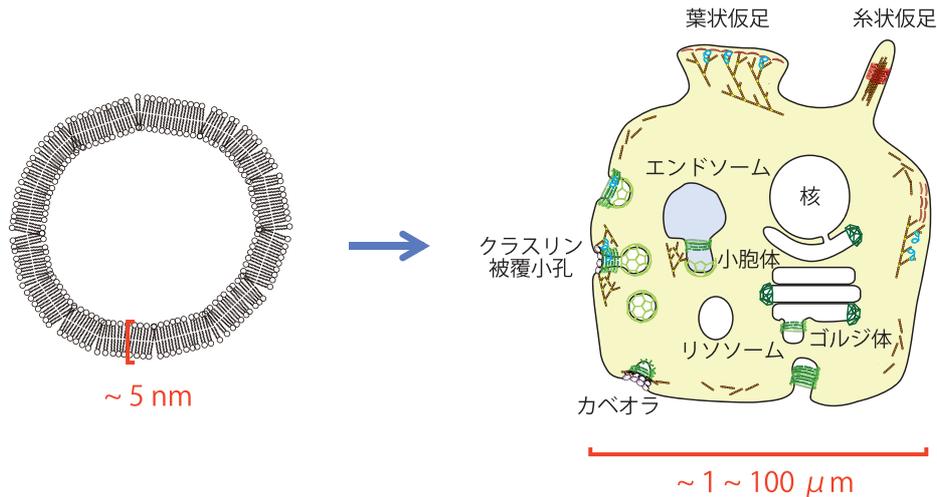


図1 脂質二重膜からなるリポソームと細胞の模式図

脂質膜は厚さおよそ5 nmの不定形な袋である。細胞の大きさは、数十 μm に達する。細胞は、サブミクロンスケール（マイクロメートルより小さい）のさまざまな膜構造を含む。

スファチジルイノシトールのうち、ホスファチジルイノシトール 4,5-二リン酸 $[\text{PI}(4,5)\text{P}_2]$ はホスホリパーゼ C によってジアシルグリセロールとイノシトール 1,4,5-三リン酸 (IP_3) に分解され、それぞれがシグナル伝達物質として働く³⁾。ホスファチジルイノシトール 3-リン酸 $[\text{PI}(3)\text{P}]$ やホスファチジルイノシトール 3,4,5-三リン酸 $[\text{PI}(3,4,5)\text{P}_3]$ は PI3 キナーゼによって産生され、さまざまなタンパク質の活性を調節する⁴⁾。この機構は、後に述べる細胞骨格の調節などのシグナル伝達にも関わっている。

スフィンゴ脂質には、スフィンゴリン脂質、セレブロシド、ガングリオシドの3種類があり、セレブロシドとガングリオシドは糖鎖を含む。動物細胞では糖脂質は細胞膜二重膜の外側に存在し、糖鎖を外側に向けている。糖脂質が外側にだけ存在するのは糖鎖の付加がゴルジ体の内腔で起きるためである。ゴルジ体内腔は細胞の外側に相当する⁵⁾。

生体膜はリン脂質を主成分とした脂質二重層でできているが、この二重層には相転移温度と呼ばれる閾値があり、この温度以下ではゲル状態となり流動性は失われる。生体膜が生理機能を果たせるのは相転移温度以上の温度である。この相転移は、脂質膜の形態変化や脂質膜小胞の形成に重要であるとの報告がある^{6,7)}。相転移温度はリン脂質の脂肪酸炭化水素鎖が短く、不飽和度が高いほど低くなる。また、二重層中にコレステロールが共存すると相転移温度は消失し、高温での流動性は低下するものの、低温での流動性を増加させ、常に流動性のある膜の状態を保つ⁸⁾。

生体膜はゾル状の流動性を持った脂質二重層を基本構造とし、そこに膜タンパク質がモザイク状に結合あるいは貫通した構造を持つと考えられている。この構造モデルを流動モザイクモデルと呼ぶ⁹⁾。膜タンパク質は疎水性の α ヘリックスを持ち、この部分が脂質二重層内部の炭化水素鎖と疎水的相互作用をしている。膜タンパク質の多くは生体膜中を自由に移動でき、また、あるものは膜の脂質や別のタンパク質と共有結合で固定されている。

このように脂質二重膜を構成する脂質は相互に連結しておらず、常にランダムに運動している。つまり、脂質二重膜は二次元液体と考えることができる。脂質により構成される膜は、それ自体では特定の形をとることができない。したがって、細胞膜だけでは基本的に球状の形態をとる。細胞膜は別の構成物（アクチン細胞骨格や、さまざまな膜結合タンパク質）によって支えられることでさまざまな細胞特有の形態を作っている¹⁰⁻¹²⁾。

真核生物では、細胞膜が細胞の最外層にくる場合は、細胞膜は、細胞膜の内側に存在する細胞骨格によって主に支えられていると考えられている。膜タンパク質のあるものは、細胞膜の内側に形成されている細胞骨格と相互作用し自由拡散が制限されることが知られている¹³⁾。たとえば、赤血球では膜内側の編み目構造を作っているスペクトリンに結合した膜タンパク質はほとんど拡散しない。しかし、さまざまな細胞内小器官において脂質膜の形態を制御する機構の全体像は不明な点が多い。

膜に存在するタンパク質には膜貫通タンパク質と、脂質膜へ局在化するための脂質修飾を受けたタンパク質、さらに可溶性のタンパク質がある。前二者は常に脂質膜に存在すると考えられるが、可溶性タンパク質は、静電的な相互作用や、疎水性アミノ酸からなる数十アミノ酸の挿入によって脂質膜と一時的に結合する。対照的に、膜貫通タンパク質には疎水性の高い α ヘリックス構造がみられる。また、膜外に露出する部分は極性を持つため、膜タンパク質は膜脂質と同様に両親媒性分子である。

3. 細胞骨格

1) 細胞骨格

細胞骨格は、真核細胞の細胞質に縦横に張り巡らされた網目状、束状、あるいは繊維状の構造であり、タンパク質によって構成されている。細胞骨格を構成するタンパク質

は、単量体状態と、重合したフィラメント状態（繊維、あるいはポリマー状態、タンパク質もアミノ酸が共有結合したポリマーであるが、ここではタンパク質が非共有結合によって会合したポリマー状態をさす）の二つの状態をとる。特筆すべきは、細胞骨格の伸張には極性がある（速く重合する端と遅く重合する端がある）ことである。細胞骨格の重合状態を破壊する薬剤で細胞を処理することで細胞が退縮する事実は、細胞形態の維持に細胞骨格が必要であることを示している。したがって、本来細胞膜は特定の形態をとらず、細胞骨格の形態が細胞形態を決定すると以前から考えられている。

真核生物の主な細胞骨格には、アクチン、チューブリン（微小管）、中間径繊維の3種類が知られている。いずれも、単量体状態と、繊維状になった重合状態の二つの状態をとりうるので、必要に応じて繊維の長さを調節できる。特に細胞壁を持たない動物細胞では、細胞骨格の構造が細胞形態の決定に重要である。細胞骨格タンパク質の重合と脱重合による繊維の長さ調節が、細胞の形態をさまざまに変化させるのに必要であると考えられている。植物や酵母の細胞形態は細胞壁によって規定されていて、大きく変化することはないので、細胞骨格は、エンドサイトーシスのような細胞内の輸送や細胞分裂に主に関わっていると考えられる。また、ミトコンドリア、ゴルジ体などの細胞内膜小器官は細胞骨格に結合して存在することから、細胞骨格は細胞内膜系の形も決定していると考えられる¹⁴⁾。

細胞の形は静的なものではなく動的に変化し、細胞が機能を発揮するときや個体発生において細胞が機能すべき場所に移動するときなどのさまざまな局面でダイナミックに変化している。三つの主な細胞骨格（アクチン、微小管、中間径繊維）のなかで、アクチンは細胞の移動先端で最もダイナミックに再構成され、細胞が形を変化させるとききの力の発生の基礎となっている¹⁴⁾。アクチンフィラメントが力を発生するためには二つの方法がある。一つはアクチン重合によりアクチンフィラメントが伸長すること自体によって発生する力であり、もう一つは筋肉に代表されるようにアクチンフィラメントの上でミオシンが運動することによって発生する力である¹⁵⁾。

2) 葉状仮足と糸状仮足

細胞が外に向かって広がる時、広がっていく細胞膜の先端（移動先端）でみられるアクチンフィラメントによって構成される構造は、主に葉状仮足と糸状仮足である。葉状仮足（ラメリポディア, lamellipodia）形成においては、しばしば細胞の移動先端が波打って（ruffling）いて、その縁は半円状の円弧を描く。葉状仮足においてアクチンフィラメントは非常に密なメッシュを形成していて、反矢じり端が外側を向いている（図2）。すなわち先端の細胞膜の直下では激しいアクチン重合が起こり、細胞膜を押し出すことで細胞膜の波打ちが起こり、細胞の移動先端が伸展していくと考えられる。この葉状仮足形成には低分子量

Gタンパク質 Racの活性化が重要である¹⁶⁾。

糸状仮足（フィロポディア, filopodia）は、葉状仮足と異なり移動先端にみられるスパイク（棘）として観察される。スパイクの中ではアクチンフィラメントは束になっており、反矢じり端はやはり外側を向いている。糸状仮足形成には低分子量Gタンパク質 Cdc42の活性化が重要である^{16,17)}。

3) 細胞内でのアクチン重合活性化メカニズム

アクチンは単量体アクチンと、単量体アクチンが重合したアクチンフィラメントの二つの状態をとる（図2）。移動先端の仮足では、運動していく方向に向かってアクチンが重合している。アクチンフィラメントは反矢じり端と矢じり端の二つの端を持つが、速く重合するのは反矢じり端である。実際の細胞内では、速いアクチン重合が起こる反矢じり端はすべて細胞の移動する方向、あるいは、脂質膜が変形していく方向を向いている^{18~22)}。

これらのアクチン重合は制御されていなければならない。注意すべき点は、アクチンを精製して *in vitro* で実験を行う際に、アクチンがある濃度以上で存在すればアクチンだけで重合可能であることである。このとき単量体アクチン3個が結合した三量体アクチンを重合核としてアクチン重合が起こる。精製アクチンだけの場合、この三量体形成がアクチン重合開始の律速段階となる。しかしながら、細胞内のアクチン濃度は三量体形成に必要なアクチン濃度よりもはるかに高い。

そのため、細胞内では単量体アクチンが自然に重合核（三量体）を形成してしまわないようさまざまなタンパク質が単量体アクチンの重合を妨げている。まずあげられるのは単量体アクチンに結合するタンパク質 [チモシン (thymosin), プロフィリン (profilin)] である。チモシンやプロフィリンはアクチン三量体形成を妨げるだけでなく重合可能な単量体アクチンを維持している。また、細胞は常にある程度のアクチンフィラメントを使って自身の形態を保持している。アクチンフィラメントの片方の端（反矢じり端）は重合核となる（三量体の端と同じと考えられる）ので、アクチンフィラメントの制御されない伸長を防ぐため、細胞内では反矢じり端はキャッピングタンパク質という名のタンパク質やゲルゾリン (gelsolin) などの反矢じり端キャップタンパク質によって覆われ重合核とならないよう（伸長しないよう）になっている。さらに、コフィリン (cofilin) のようなアクチン脱重合タンパク質が重合した後時間が経過したADP結合型アクチンフィラメントを脱重合させ、単量体アクチンの量を保っている^{17,23~25)}。

したがって細胞内では常に非常に高い濃度の単量体アクチンが維持されているにも関わらず、*in vitro* 系のような単量体アクチンの三量体形成を起点にしたアクチン重合を開始できない。しかし、いったん重合核が生じると、高い単量体アクチン濃度のおかげで非常に速いアクチン重合を起こすことができる。つまり、細胞内におけるアクチン重

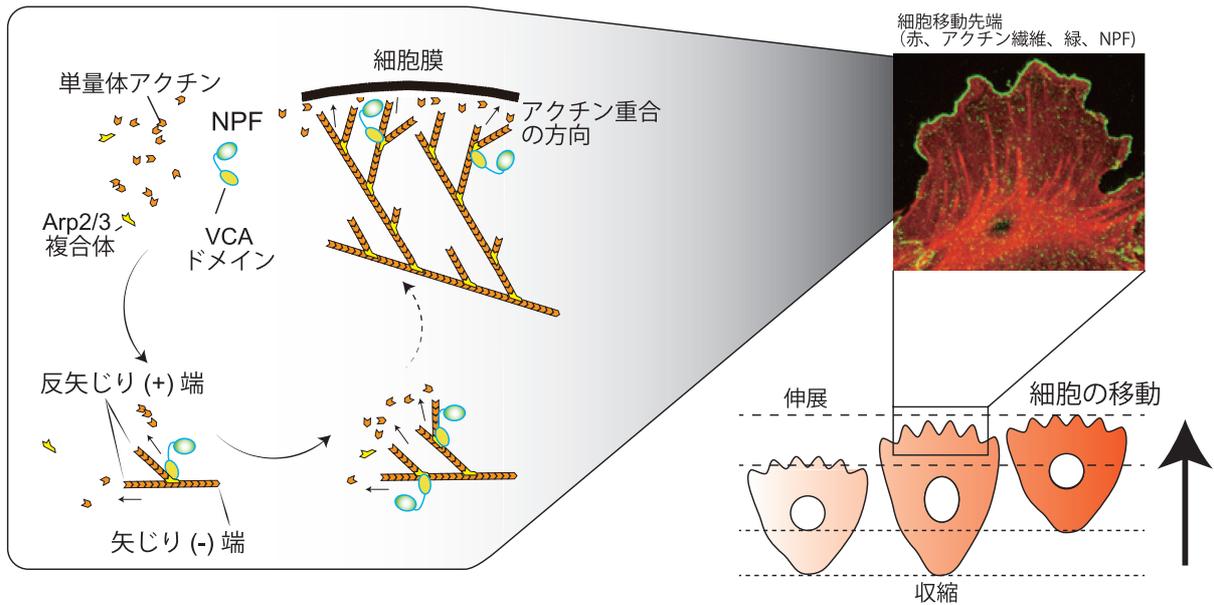


図2 WASPファミリータンパク質と Arp2/3 複合体によるアクチン重合制御
細胞膜直下での Arp2/3 複合体が活性化することによって生じる枝分かかれたアクチンフィラメントは、葉状仮足形成における細胞膜の伸長に重要である。アクチンフィラメントの太さはおよそ 5 nm 程度である。

合の開始はシグナル依存的に重合核を形成することで行われるのである^{17, 23~25}。

4) 重合核形成メカニズム—切断, キャップ除去, Arp2/3 複合体, Formin

生化学的研究から、アクチンの重合は単量体が三量体になる過程から始まり、この数分を要する過程が律速段階であることが知られていた。三量体形成後には重合が自動的に進むため、三量体形成をアクチン重合における核化反応と呼ぶ。しかし、この数分を要する律速段階では、細胞の運動時やエンドサイトーシスの際にみられる即応性のアクチン重合を説明することができなかった^{16, 23, 25}。

重合核形成は、キャッピングタンパク質などの反矢じり端キャップタンパク質を除去するか、三量体アクチンの代替の重合核となるタンパク質を用意することにより行われる。キャップの除去には二つの方法がある。一つは反矢じり端を覆っているキャッピングタンパク質を PI(4,5)P₂ などのシグナル分子が除去し、反矢じり端を露出させる方法である。もう一つはキャッピングタンパク質が結合した反矢じり端を含むアクチンフィラメントを切断し、生成したアクチンフィラメントの反矢じり端を重合核として用いる方法である²⁶。切断によるアクチン重合の開始にはコフィリンが重要であると考えられている。コフィリンは LIM キナーゼによってシグナル依存的に制御されている²⁷。これらのキャップ除去あるいは切断による重合核形成が仮足形成のきっかけとなると考えられている。

キャップ除去ではもとからあるアクチンフィラメントの反矢じり端を利用することが多いが、重合核を新規に作り出すこともある。重合核の一部となるタンパク質としては Arp2/3 複合体が知られている。Arp2/3 複合体は Wiskott-

Aldrich Syndrome protein (WASP), neural WASP (N-WASP) や WASP family verprolin-homologous protein (WAVE) 1, 2, 3 をふくむ WASP/WAVE ファミリータンパク質によって活性化され、自身を起点としてアクチン重合を開始できる (WAVE には SCAR という別名もある)^{25, 26, 28~30}。

特に葉状仮足においては、Arp2/3 複合体はアクチン重合核形成に重要であるだけでなく、アクチンフィラメントの網目状構造を作る基礎ともなる。in vitro で Arp2/3 複合体と、WASP/WAVE ファミリータンパク質の Arp2/3 複合体活性化ドメイン (VCA ドメイン)、アクチンを混合し重合条件にすると、70度の角度で枝分かかれたアクチンフィラメントが形成される³¹ (図2左)。枝分かれ形成は、すでに存在するアクチンフィラメントの上に Arp2/3 複合体が新しいアクチンフィラメントの重合核を作ることで生じる。試験管内で Arp2/3 複合体によって形成される枝分かれの角度は、細胞の葉状仮足でみられるアクチンの枝分かれ角度と同じである³²。また、葉状仮足において、Arp2/3 複合体は枝分かれの基部に存在している。実際に仮足形成において WAVE ファミリータンパク質および Arp2/3 複合体は必要不可欠であることが示されている^{33, 34}。このように葉状仮足形成は Arp2/3 複合体の活性化によって生じると考えられる。先に述べたように、生体内ではキャッピングタンパク質によって反矢じり端はすぐにふさがれてしまう。Arp2/3 複合体は枝分かかれたアクチンフィラメントを作るので、たとえ伸長中の反矢じり端がキャッピングタンパク質によってふさがれてしまっても、そのフィラメントの側面からアクチンフィラメントを伸ばすことにより、相互に連結したアクチンフィラメントを効率よく作ることができるので非常に効率的である。キャップ除去によるアクチン重合の開始と、Arp2/3 複合

体によるアクチン重合、枝分かれしたアクチンフィラメントの形成は共同して起こると考えられている^{26, 35, 36}。

Arp2/3 複合体の活性化をシグナル依存的に行うためには、VCA ドメインが Arp2/3 複合体と相互作用できる状態と、できない状態の両者が必要である³⁷。WASP, N-WASP の場合は、VCA ドメインが分子内のほかのドメインと相互作用しているため Arp2/3 複合体とは相互作用できない。この分子内相互作用はほかのタンパク質との相互作用により壊れ、VCA ドメインが Arp2/3 複合体と相互作用できるようになる³⁸。WAVE の場合は、分子内相互作用ではなくほかのタンパク質と WAVE のタンパク質複合体形成によって WAVE の VCA ドメインと Arp2/3 複合体間の相互作用が抑制されていると考えられている。たとえば Rac などのタンパク質が WAVE を含むタンパク質複合体に結合すると、WAVE が複合体中で立体構造変化を起こし、Arp2/3 複合体と相互作用できるようになると考えられる³⁸。近年、WASP, N-WASP, WAVE1~3 以外の新しい WASP ファミリータンパク質として、WASH, WHAMM, JMY が同定されている。しかしこれらの制御の詳細は明らかではない^{16, 39, 40}。

Arp2/3 複合体中では、アクチン様タンパク質である Arp2 と Arp3 がアクチン二量体を模倣して配置しており、WASP ファミリータンパク質の VCA 領域がもう一つのアクチン単量体を付加することで三量体形成を模倣して、非常に速くアクチン重合を開始することができる。

それでは、枝分かれのないアクチンフィラメントの束からなる糸状仮足はどのようにして生じると考えられているのだろうか？ 糸状仮足形成には二つのメカニズムが考えられている⁴¹。一つは Arp2/3 複合体依存的に形成された分枝（枝分かれした）アクチンフィラメントが束化されて糸状仮足となるとする考え方である。Arp2/3 複合体によって生じた分枝アクチンフィラメントは、Fascin やその他のアクチンフィラメント架橋タンパク質によって束化され糸状仮足となると考えられる。もう一つのメカニズムは、Arp2/3 複合体非依存的に形成されたアクチンフィラメントが束化されるメカニズムである。Formin homology proteins (formin)/Diaphanous (Dia) や、Ena / Vasodilator-stimulated phosphoprotein (VASP) ファミリータンパク質が、反矢じり端でのアクチンフィラメントの伸長に関わっているとして注目を集めている。Formin は伸長する反矢じり端に単量体アクチンを呼び込み、自身は反矢じり端に常に結合して、逐次的 (processive) にアクチン重合を促進する。Ena/VASP は、キャッピングタンパク質と拮抗しアクチン重合を促進する。ある種の細胞では、Formin が糸状仮足の先端に存在し、糸状仮足形成に必要な不可欠であることが示されている。実際のメカニズムはこの二つのメカニズムが融合したものであると考えられる。また、複数の単量体アクチンに同時に結合してアクチン重合を開始できる spire のようなタンパク質も見つかっているが、どのようなアクチン細胞骨格形成に関わっているかは明らかで

ない⁴²。

5) アクチンコメットと葉状仮足の類似性

アクチンがこのような構造体を形成するための力学的な力の発生は長く、ミオシンによる収縮力が重要であると考えられてきた。しかし、力の発生はアクチン重合によるアクチンフィラメントの伸張にある。この解明に重要な役割を果たしたのが病原体のアクチンコメット運動の発見である¹⁵。

細胞内には時折アクチンコメットと呼ばれるアクチンフィラメントからなる構造が、細胞内の何らかの小胞などの移動に伴って観察される。たとえば、エンドサイトーシスに伴って膜小胞が細胞内を移動するとき、アクチンを重合させながら彗星（コメット）のように移動するようすが観察される。あるいは、病原体（赤痢菌やリステリア菌、ワクシニアウイルスなど）が細胞に感染したとき、これらの病原体は細胞内を、アクチンコメットを形成しながら移動することによって感染の場を広げている。

このような局面でみられるアクチンコメットは、細胞の先端でみられる葉状仮足とさまざまな類似点を持っている。アクチンコメットにおいても葉状仮足においても、アクチン重合は運動方向に生じる。すなわち、葉状仮足において、重合して伸びるアクチンフィラメントは細胞膜を突出させていく。アクチンコメットにおいて、アクチンフィラメントは膜小胞や病原体に向かって伸びていきこれらを押ししていく。両者においてアクチンフィラメントが運動能を発生する様式は同じであると考えられる^{15, 24, 43~46}。

興味深いことにアクチンコメット形成は、N-WASP をコートしたプラスチックビーズと、溶液中の Arp2/3 複合体、コフィリン、キャッピングタンパク質、アクチン、プロフィリンで再現できることが知られている。すなわち、これらがアクチン重合により力を発生するための最小ユニットである¹⁵。

ノックアウトマウスを用いた解析などにより、N-WASP や WAVE と Arp2/3 複合体が誘導するアクチン重合は、増殖因子およびその下流の低分子量 G タンパク質などの下流に位置し、葉状仮足形成に直接関与していることが示された^{33, 47}。このアクチン重合の制御は、神経細胞や血管内皮細胞の形態形成および細胞の移動（すなわち神経ネットワークや血管の形成）と、がん細胞の移動現象である浸潤や転移に重要であった^{34, 48, 49}。

6) アクチンフィラメントによる力の発生「爪車モデル」

上記のようなアクチンフィラメント形成に伴う力の発生は、細胞においては移動先端が細胞の外に向かって伸びる現象として観察される。細胞の移動先端は細胞膜であり、その直下で伸長しているアクチンフィラメントが細胞膜を押し出していると考えられる。

古典的には、アクチンフィラメントによる細胞膜のかたちの変化は爪車 (ratchet, ラッチェット) モデルで説明さ

れてきた。爪車とは一方方向にのみ回転する歯車のことである。もし爪車が十分小さくて熱で揺らいでいたとすると、どちらの方向にも一定の確率で回る。ここで、留め金が回る方向を固定すると仮定すると、爪車は一方方向にしか回らない(図3)。爪車が細胞膜で、留め金がアクチンフィラメントであると考えれば、細胞の移動先端で細胞膜が細胞骨格の変化に応じて形態変化する機構を説明できる。

細胞膜は熱によってある振幅で揺らいでいる。熱で揺らぐ細胞膜がアクチンからみて遠くに位置するとき、アクチンフィラメントと細胞膜の間の空間が広がる。ここにアクチンフィラメントが伸びていくと、揺らいでいる細胞膜が戻ってくる空間が存在しなくなる⁵⁰⁾。このような機構で、アクチンフィラメントの形成が細胞膜を押し出すことができると考えられている。ここで重要なのはアクチンフィラメントが細胞膜より十分固くて、しかも固定されていないと、細胞膜が戻ってきたときにせっかく伸びたアクチンフィラメントが押し戻されてしまうと考えられることである。しかし、仮足内のアクチンフィラメントは、Arp2/3による枝分かかれやアクチンフィラメント架橋タンパク質によって相互に連結していて、とても大きな質量になっている。さらに、アクチンフィラメントは接着装置とつながっていて、細胞外ともつながっている。したがって、アクチンフィラメントは、十分固く細胞膜によって押し戻されることはないと考えられている。すなわち、細胞形態変化の本質は、熱揺らぎが一方方向に増幅したものと考えることが

できる。

4. 脂質膜を直接変形し膜の形態を規定する脂質膜の鑄型タンパク質

細胞膜の裏側を詳しく観察すると、アクチンフィラメントがほぼすべての膜構造の近傍に存在し、かつ、WASPファミリータンパク質とArp2/3複合体によって形成されていることが判明した。たとえば、クラスリン被覆小孔が切断され小胞となる過程ではアクチン重合が駆動力を発揮する⁵¹⁾。しかし、上述のナノスケールの膜構造を正確に形成するには、その近傍でアクチンが重合するだけでは不十分である。このことはアクチン重合促進タンパク質と膜脂質を仲介するタンパク質の存在を示唆した。

Bin-amphiphysin-Rvs167 (BAR) ドメインは、動物のamphiphysinとBin、および対応する酵母タンパク質Rvs167とRvs161のN末端に同定された保存性ドメインとして初めて記述された。ショウジョウバエでは、amphiphysinの変異は、T管形成に障害を誘導し、BARドメインによる脂質膜の形態形成の誘導が解明されるきっかけの一つとなった⁵²⁾。

BARドメインは脂質結合ドメインであり、*in vitro*で人工の脂質二重膜を変形し、膜管状(チューブ)構造を作ることができる。2004年にMcMahonらのグループによってamphiphysinのBARドメインの立体構造が明らかにされ

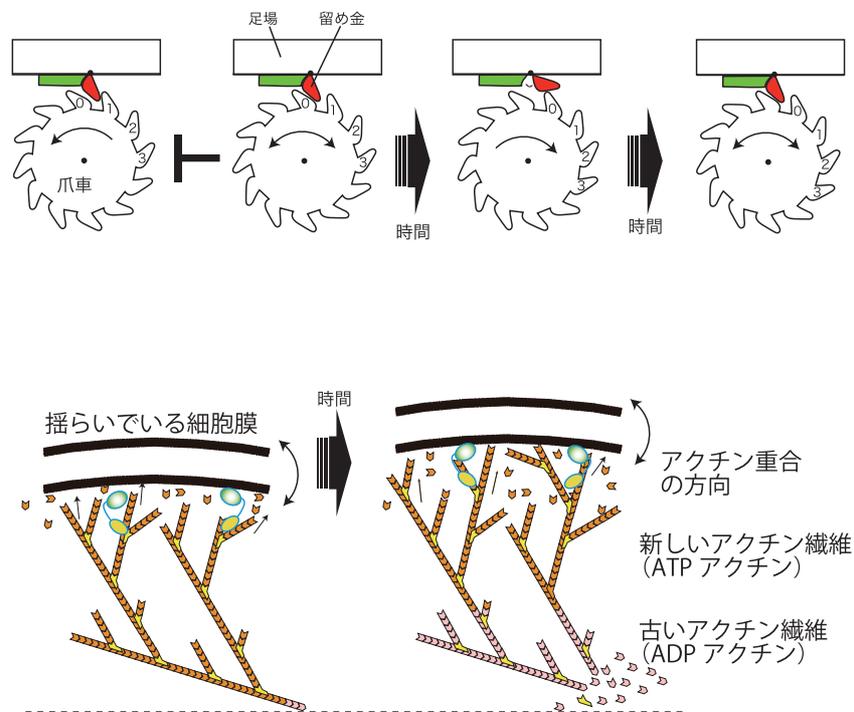


図3 爪車(ラッチェット)モデル

爪車は一方方向にしか回らない。もし爪車が非常に小さく、熱で揺らいでいるとすると、留め金が一方方向の回転しか許さないため、平均すると一方方向に回ることになる。図2のモデルでは、細胞膜の揺らぎによって生じた空間にアクチンフィラメントが伸長し、その空間を埋めることで、細胞膜が変形していくと考えられる。すなわち、アクチンフィラメントが爪車となると考えられる。

た⁵³⁾。BARドメインの α ヘリックス束はバナナ形の立体構造を持ち、その内側の脂質膜結合面の立体構造に基づくカーブ内側の半径と、*in vitro* でみられる膜管状構造の半径はほぼ一致していた。このため、脂質膜の形態形成においてはバナナ形の立体構造が重要であると考えられ、タンパク質の立体構造と脂質膜の形態の関連性が示唆された(図4)。

我々は、N-WASPやWAVEがそのアミノ酸配列の中央にポリプロリンを持つため、多数のSH3ドメイン含有タンパク質と結合すると予想した。我々は結合タンパク質を探索し、FBP17、CIP4、Toca-1、PACSIN2、IRSp53などを同定した^{54~58)}。これらはC末端側にSH3ドメイン、N末端側に機能未知のコイルドコイル領域を持っていた。我々はこのN末端領域が、BARドメインと機能の類似した新規の脂質結合ドメインであることを突き止めた^{54,55)}。このドメインを持つタンパク質は、アミノ酸配列の保存性および機能の類似性から、BARドメインに近縁であり、現在では総称してBARドメイン含有タンパク質(BARタンパク質)と呼ぶ。BARドメインは、(狭義の)BARドメイン、F-BARドメイン、I-BARドメインの三つのファミリーに便宜的に分けられ、これらを総称してBARドメインスーパーファミリーと呼ぶ^{12,16,51,59~61)}(図4)。

FBP17やCIP4のBARドメインは、F-BARドメインに分類される。研究の当初、FBP17やCIP4のN末端領域を細胞に過剰発現させたところ、顕著な細胞膜の陥入が観察された。この陥入構造は、核を中心に放射状であったため、当初は微小管との結合が予想された。しかし、人工の脂質膜小胞(リボソーム)とFBP17やCIP4のN末端領

域を混合したところ、不定形のリボソームが一定の直径の管状構造に変化した^{54,55,62)}。したがって、BARドメインは、脂質膜の形状を変化させるドメインであると考えられる。

構造解析技術の発展に伴い、BARドメインに類似したドメインがarfaptinをはじめとした多数のタンパク質に存在することが判明した。また、これらのドメインは脂質膜への結合という共通の機能を持っている。すべてのBARドメインは、二量体が一つの単位として機能すると考えられている。すべてのBARタンパク質は二量体を構成し、合わせて6本の α ヘリックスが束を形成している。

BARドメイン二量体は、 α ヘリックス束の片側面の静電的な相互作用により脂質膜に結合することが基本である^{53,54,62)}。しかし、BARドメインスーパーファミリーの中には静電的相互作用に加えて、 α ヘリックス束の外に突き出した両親媒性 α ヘリックスや、疎水性アミノ酸を含む突起(くさび:wedge)などを持ち、それらの脂質膜への挿入が膜結合および変形に寄与するものもある。このような例には、endophilinやamphiphysin、PACSINがあげられる^{56,63~65)}。膜形状を変形させるBARドメイン以外のタンパク質ドメインとして、ENTHドメインが知られている。ENTHドメインは、両親媒性ヘリックスの挿入のみで膜の形状を変形させる。したがって両親媒性ヘリックスの挿入は、それを持つタンパク質が集積する膜形状の形成に重要な役割を果たすと考えられる^{66,67)}(図5)。

BARドメインには、立体構造上の明瞭な脂質結合ポケットは存在しない。したがって脂質結合特異性は弱く、正電荷を持った脂質に結合すると考えられる。正電荷を

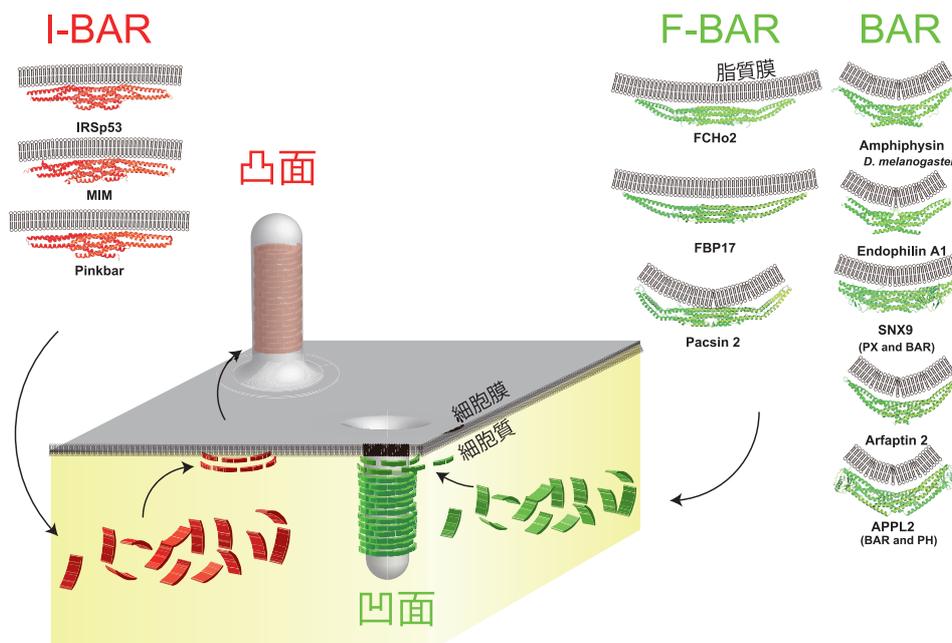


図4 BARタンパク質

BARドメインは二量体を一単位とする。図に示した立体構造はいずれも二量体である。この二量体はポリマー形成を行い、それがさらにらせんを形成することで、脂質膜チューブを形成する。

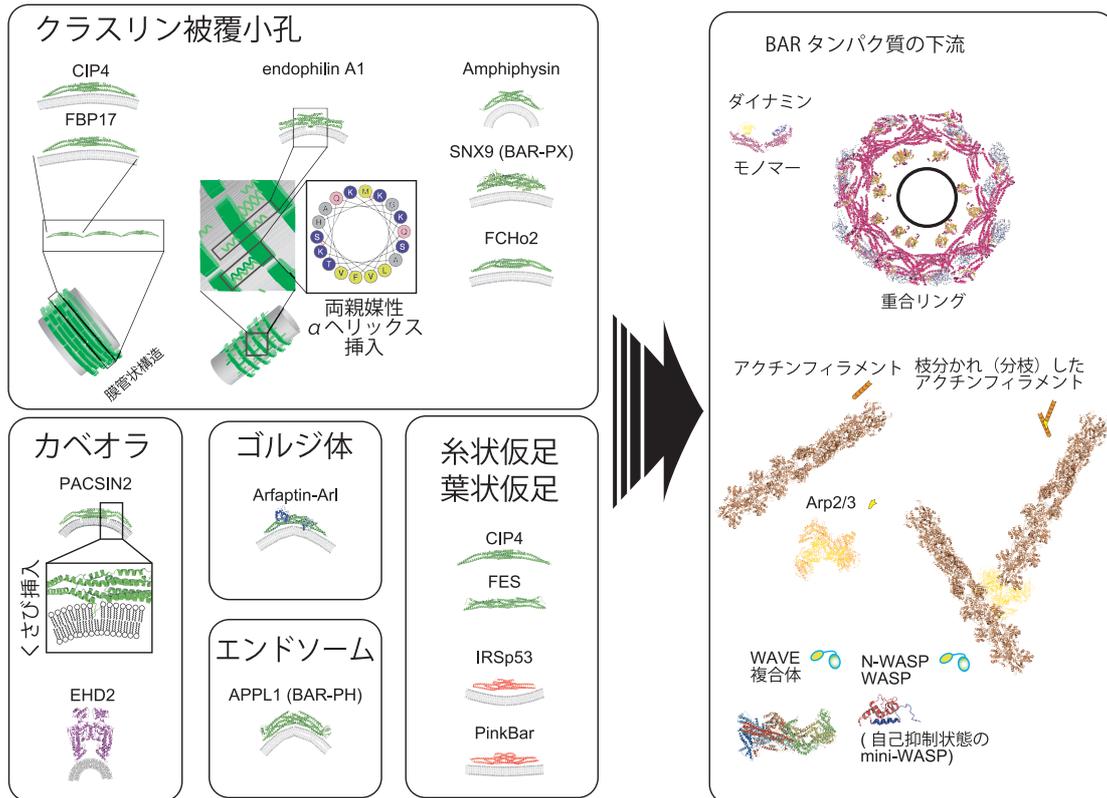


図5 BAR タンパク質による膜変形とダイナミン、Arp2/3 複合体との協働作業

それぞれの細胞内小器官に局在する BAR ドメインの代表例。FBP17 と endophilin については、クライオ電子顕微鏡で確かめられた膜チューブ上での BAR ドメインの集合様式を示す。脂質膜との相互作用様式が明らかになっているものについては脂質膜も示す。BAR タンパク質は、多くの場合 N-WASP や WAVE などの Arp2/3 複合体活性化タンパク質と、膜を切断するタンパク質であるダイナミンと協働する。

持った脂質には、ホスファチジルセリンのほか、 $PI(4,5)P_2$ に代表されるリン酸化されたホスファチジルイノシトールがある。ホスファチジルセリンは細胞膜に豊富に含まれているので、それだけでも BAR ドメインの結合に十分であるが、より強い正電荷を持つリン酸化されたホスファチジルイノシトールが、より強い BAR ドメインの細胞膜局在化作用を持つと考えられる⁵⁵⁾。

興味深いことに、ドメインの立体構造を比較すると α ヘリックス束のパナナ形のカーブの曲率に多様性があることが確認できる。この構造上の曲率は *in vitro* で形成する膜管状構造の半径、さらに細胞内で規定する膜曲率に対応していると考えられている。また、これらのドメインを有するタンパク質 (BAR タンパク質) のドメイン構成も多様である。SH3 ドメイン、G タンパク質の GTPase を活性化する GAP ドメインのほか、BAR ドメインとともに脂質に結合する PX ドメインや PH ドメインが多くみられる。また、GEF ドメイン、PDZ ドメイン、チロシンキナーゼドメインなど、特徴的なものも存在する。このような多様な曲率と多様なドメイン構成は、膜の種類 (すなわち細胞膜と、ゴルジ体、エンドソームなどの内膜) および膜上の微細形態の多様性に対応し、微細形態の制御や機能の発揮を担っていると考えられる^{51, 61, 68)} (図 5)。

BAR ドメインの立体構造には多様性があり、その差異

に応じて誘導される膜構造も異なっている。たとえば、FBP17 と CIP4 はクラスリン被覆小孔の、PACSIN2 はカベオラの陥入構造の形成にそれぞれ関与する^{55, 57)}。

糸状仮足や葉状仮足などの突起構造は、クラスリン被覆小孔などの陥入構造とは変形方向が逆向きである。IRSp53 などは inverse BAR (I-BAR) ドメインと呼ばれる BAR ドメインと類似構造のドメインを持つ。しかし、I-BAR ドメインの立体構造はバナナ状に湾曲していないため、脂質結合面が凸面であり、そのため突起構造を形成する^{54, 69, 70)}。

結晶構造や電子顕微鏡像の解析により、FBP17 と CIP4 の BAR ドメインは二量体としてバナナ状の立体構造の凹側の表面を介して脂質膜に結合し、さらにらせん状に集合・整列することで、脂質膜を管状に変形することが明らかになった⁶²⁾。この整列様式の解明には、FBP17 や CIP4 の BAR ドメインの立体構造を決定するときに見いだされたタンパク質結晶中での分子会合が大きな助けとなった。結晶はいうまでもなくタンパク質が整列した状態であるので、タンパク質どうしに何らかの一定の相互作用が存在する。FBP17 や CIP4 の F-BAR ドメインの場合には、BAR ドメインの二量体の端どうしに相互作用がみられた。らせんを形成するために必要な、BAR ドメインの側面での相互作用は結晶中にはみられなかったが、立体構造上重ね合わせることでできる表面が推定でき、のちにクライオ電子

顕微鏡で証明された^{63,64)}。この二つの（端点と側面）の相互作用により、BAR ドメインは脂質膜の表面でらせんを形成し、脂質膜から定まった直径の管状構造を形作ると考えられている（図5）。

5. BAR ドメインと細胞の持つ膜構造

次に、BAR ドメインの関与が指摘されている細胞の膜構造についていくつか代表的な例を述べる（図5参照）。

1) クラスリン被覆小胞/小孔のエンドサイトーシスの場合

クラスリンを介したエンドサイトーシスは、細胞が細胞外の物質を取り込む過程のうち、最もよく研究されている主要な過程である⁷¹⁾。極性を持つ分子あるいは大きな分子は、疎水性の物質が構成される細胞膜を通り抜けることができない。このため細胞表面に結合した物質はエンドサイトーシスにより細胞膜ごと細胞内に引き込まれて細胞内に輸送される。特に、タンパク質のような大きな細胞外物質が結合する細胞膜上の受容体の多くは、細胞膜直下に存在するクラスリンタンパク質と直接または間接的に結合している。受容体に細胞外のリガンド物質が結合すると、クラスリン被覆小孔は深くなり細胞質の中に陥入し、ダイナミン (dynamin) およびアクチン細胞骨格の働きにより、細胞膜ごと切断され小胞として細胞内に回収される（図6）。

クラスリン被覆小孔は、この受容体のエンドサイトーシスシグナルを受け、クラスリン被覆が集合することにより、平面状の細胞膜が陥入して形成されると考えられてきた。クラスリン被覆小孔には多数の BAR タンパク質が局在することが知られている。脂質結合面の曲率が緩いものから順に、FCHo1/2, CIP4, FBP17, SNX9, endophilin, amphiphysin の局在が知られている^{72,73)}。クラスリンとの共局在の計時変化の詳細な観察から、興味深いことにはじめ

に最も曲率の緩い FCHo1/2 が共局在し、おおむね曲率が強くなる順で局在化していくことが報告されている。この知見は、エンドサイトーシス小孔がくびれて切断に向かう過程で、BAR タンパク質が厳密にクラスリン被覆小孔の直径を制御していることを示唆しており大変興味深い。

FCHo1/2 は、SH3 ドメインを持たないが、クラスリン被覆小孔に局在するほかの BAR タンパク質は SH3 ドメインを持っている。FCHo1/2 は、その代わりにクラスリンのアダプタータンパク質である eps15 などと結合する。したがって、クラスリンでなく FCHo1/2 がはじめに局在化し、クラスリン被覆小孔を形成することも提唱されている⁷⁴⁾。

クラスリンとの共局在の経時観察によると、アクチン重合や N-WASP の集積はクラスリン被覆小孔の切断の直前にみられ、ダイナミンの集積は切断時にみられる。クラスリン被覆小孔が切断されクラスリン被覆小胞になる過程では、アクチン重合とダイナミンによる小胞の切断が生じる。通常の細胞培養の条件（細胞膜に張力がかかっていない状態など）では、小胞の形成にアクチン重合は必要なく、ダイナミンによる切断活性のみで十分であると考えられている。しかし、アクチン重合とクラスリン被覆小孔の周りのアクチンフィラメント形成は、膜に張力がかかった状態での小胞形成に必要な不可欠であると考えられている⁷⁵⁾。

2) カベオラの場合

カベオラは細胞膜のくぼみであり、陥入して小胞となって細胞内に輸送されることで、細胞外の液体を細胞内に輸送する役割を持つと考えられる^{76,77)}。小胞となるときにはダイナミンにより切断される。またさまざまなシグナル伝達に関する受容体やチャネル、トランスポーターの集積する場所でもある。最近では、機械的な伸張等に応じて細胞膜の表面積を増大させるための「しわ」である可能性も示唆

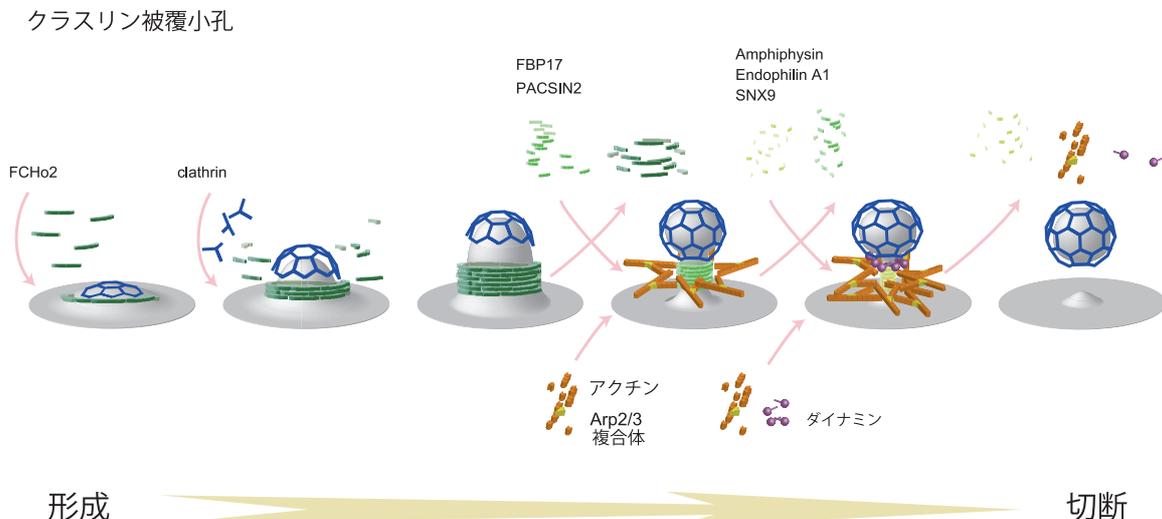


図6 WASP ファミリータンパク質と BAR タンパク質の協働

アクチンフィラメントは、クラスリン被覆小孔においても膜変形のために伸長し、その作用は BAR タンパク質と、N-WASP との結合に依存していると考えられる。

されている⁷⁸⁾。

caveolinがこの小胞の主要な構成タンパク質である⁷⁹⁾。caveolinは、クラスリンと異なり膜への挿入部位を持つ。したがって、caveolinは膜小胞として細胞膜に運ばれ、細胞膜上で集合することでカベオラを形成すると考えられる。カベオラへの関与が指摘されているBARタンパク質には、PACSIN2, PACSIN3, NOSTRINがある^{57,80)}。

3) 糸状仮足の場合

糸状仮足は細胞が移動する際に移動先端でみられる、細胞移動の方向に向かって伸びるアクチンフィラメントに富む構造体であり、葉状仮足と異なり移動先端にみられるスパイク(棘)として観察される⁴¹⁾。スパイクの中ではアクチンフィラメントは東になっているが反矢じり端はやはり外側を向いている。糸状仮足形成には低分子量Gタンパク質Cdc42の活性化が重要であり、アクチン重合によって形成される。IRSp53やMIMは、I-BARドメインを持ち、その突起膜の形成活性が糸状仮足形成に関わっていると示唆されている^{59,69)}。I-BARドメインが形成する突起膜に相当する膜管状構造は、糸状仮足の構造に相似している⁸¹⁾。しかしながら、アクチン重合と膜変形の共同作用がどのように制御されているのか、あるいは、膜の形態形成がアクチン重合と独立して生じるのかは、いまだ明らかではない。また近年、srGAPタンパク質に見いだされたF-BARドメインが糸状仮足様の膜変形を誘導するとの報告があった⁸²⁾。F-BARドメインはこれまで、膜管状構造を形成する、すなわち、膜陥入構造を形成すると考えられていたので、これまでのBARドメインタンパク質の作用機序に当てはまらない膜変形機構の発見である可能性がある。しかし、srGAPのF-BARドメインの立体構造は明らかではなく、その機序は明らかではない。

4) 葉状仮足の場合

葉状仮足は細胞が移動する際に移動先端でみられる、細胞移動の方向に向かってのびるアクチンフィラメントに富む構造体であり、しばしば細胞膜が波打って(ruffling)おり、その縁は半円状の円弧を描く。アクチンフィラメントは非常に密なメッシュをなして、反矢じり端が外側を向いている。すなわち先端の細胞膜の直下では激しいアクチン重合が起こり、細胞膜を押し出すことで細胞膜の波打ちが起こり、細胞の移動先端が伸展していくと考えられる¹⁶⁾。葉状仮足形成には低分子量Gタンパク質Racの活性化が重要である。葉状仮足には特にWAVE2が、Arp2/3複合体を介してアクチン重合を誘導することが知られている^{16,23)}。I-BARタンパク質であるIRSp53は、WAVE2に結合し葉状仮足に局在することから、葉状仮足においてもI-BARによる膜変形活性が機能している可能性がある⁶⁹⁾。葉状仮足の先端は、現在のところ、平面状に膜が伸長していくと考えられている。しかし、葉状仮足の先端は、細かに波うった膜構造をとっている可能性があり、それらが、

I-BARの形成する突起状の膜突起構造である可能性がある。また、試験管内ではF-BARタンパク質であるCIP4が、陥入構造に対応する膜の形態を誘導するにも関わらず、神経細胞においては葉状仮足の先端に局在し機能することが知られている⁸³⁾。この意義もまだ明らかではない。

5) エンドソーム, ゴルジ体

細胞内膜系におけるBARタンパク質の役割は、ほかの細胞内小器官と比べてそれほど明らかにはなっていない。しかし、エンドソーム形成には、APPL1やSNX1, SNX4, SNX8, SNX9, SNX18の関与が報告されている⁸⁴⁻⁸⁶⁾。ゴルジ体形成には、BARドメインのみからなるタンパク質であるArfaptinが関与する^{87,88)}。

6. 鋳型と骨組みの組み合わせによる、細胞のナノスケール形態決定と離散的なシグナル伝達変化の可能性

先に述べたように、BARドメインはほとんどの場合、SH3ドメインと組み合わせさせて一つのタンパク質を構成している。そのSH3ドメインの結合タンパク質としてよく解析されているものに、先に述べたArp2/3複合体の制御タンパク質であるWASPファミリータンパク質があげられる。また、もう一つの主要なSH3ドメイン結合タンパク質に、膜を切断するタンパク質であるダイナミンがあげられる(図5)。

ダイナミンは、脂質膜を切断する活性を持つGTPaseであり⁸⁹⁾、単独で膜切断を行うことができる⁹⁰⁾。BARタンパク質とダイナミンが結合することは、ダイナミンの局在化と膜切断もまた、BARタンパク質によって制御されていることを示唆している。BARタンパク質が結合した膜管状構造は、ダイナミンによって切断されうる。したがって両者は協働していると考えられる^{91,92)}。

我々は、特にBARタンパク質とアクチンフィラメントの関連についても解析を進め、BARタンパク質が脂質膜を特定の形態に変化させると同時に、N-WASPやWAVEを導入してアクチンフィラメントの形成を誘導することを見いだした^{93,94)}。WASPやWAVEの解析では、葉状仮足が主に用いられた。先に述べたように葉状仮足では、アクチンフィラメントの先端が伸長することで膜を前に押し出していきとえられている。ところが、クラスリン被覆小胞では、N-WASPとArp2/3複合体によるアクチン重合の関与が指摘されているにも関わらず、細胞膜は陥入方向に、すなわち、葉状仮足とは逆の方向に変形する。このことは、アクチンフィラメントの伸長方向を膜に対して規定する因子の存在を示唆していた。私は、このようなアクチンフィラメントの方向性を決定する分子実態がBARタンパク質なのではないかと考え、N-WASPとArp2/3複合体を含むアクチン重合の再構成系に、F-BARタンパク質のFBP17とリポソームを加え、アクチン重合を測定した。

- 3) Berridge, M.J. & Irvine, R.F. (1989) *Nature*, **341**, 197–205.
- 4) Vanhaesebroeck, B., Guillermet-Guibert, J., Graupera, M., & Bilanges, B. (2010) *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **11**, 329–341.
- 5) Balla, T. (2013) *Physiol. Rev.*, **93**, 1019–1137.
- 6) Simunovic, M., Mim, C., Marlovits, T.C., Resch, G., Unger, V. M., & Voth, G.A. (2013) *Biophys. J.*, **105**, 711–719.
- 7) Roux, A., Cuvelier, D., Nassoy, P., Prost, J., Bassereau, P., & Goud, B. (2005) *EMBO J.*, **24**, 1537–1545.
- 8) Veatch, S.L. & Keller, S.L. (2005) *Biochim. Biophys. Acta (BBA) - Mol. Cell Res.*, **1746**, 172–185.
- 9) Singer, S.J. & Nicolson, G.L. (1972) *Science*, **175**, 720–731.
- 10) Antonny, B. (2011) *Annu. Rev. Biochem.*, **80**, 101–123.
- 11) McMahon, H.T. & Gallop, J.L. (2005) *Nature*, **438**, 590–596.
- 12) Shen, H., Pirruccello, M., & De Camilli, P. (2012) *Cell*, **150**, 1300, 1300 e1301–1302.
- 13) Kusumi, A., Nakada, C., Ritchie, K., Murase, K., Suzuki, K., Murakoshi, H., Kasai, R.S., Kondo, J., & Fujiwara, T. (2005) *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, **34**, 351–378.
- 14) Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2008) *Molecular Biology of the Cell*, 5th ed., Garland Publishing.
- 15) Loisel, T.P., Boujemaa, R., Pantaloni, D., & Carlier, M.F. (1999) *Nature*, **401**, 613–616.
- 16) Takenawa, T. & Suetsugu, S. (2007) *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **8**, 37–48.
- 17) Pollard, T.D., Blanchoin, L., & Mullins, R.D. (2000) *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, **29**, 545–576.
- 18) Kondo, H. & Ishiwata, S. (1976) *J. Biochem. (Tokyo)*, **79**, 159–171.
- 19) Woodrum, D.T., Rich, S.A., & Pollard, T.D. (1975) *J. Cell Biol.*, **67**, 231–237.
- 20) Hayashi, T. & Ip, W. (1976) *J. Mechanochem. Cell Motil.*, **3**, 163–169.
- 21) Pollard, T.D. & Cooper, J.A. (1986) *Annu. Rev. Biochem.*, **55**, 987–1035.
- 22) Oosawa, F. & Asakura, S. (1975) *Thermodynamics of the Polymerization of Proteins*, Academic Press.
- 23) Pollard, T.D. & Borisy, G.G. (2003) *Cell*, **112**, 453–465.
- 24) Pantaloni, D., Le Clairche, C., & Carlier, M.F. (2001) *Science*, **292**, 1502–1506.
- 25) Suetsugu, S. & Takenawa, T. (2003) *Int. Rev. Cytol.*, **229**, 245–286.
- 26) Suetsugu, S., Miki, H., & Takenawa, T. (2002) *Cell Motil. Cytoskeleton*, **51**, 113–122.
- 27) Yang, N., Higuchi, O., Ohashi, K., Nagata, K., Wada, A., Kangawa, K., Nishida, E., & Mizuno, K. (1998) *Nature*, **393**, 809–812.
- 28) Rohatgi, R., Ma, L., Miki, H., Lopez, M., Kirchhausen, T., Takenawa, T., & Kirschner, M.W. (1999) *Cell*, **97**, 221–231.
- 29) Miki, H., Suetsugu, S., & Takenawa, T. (1998) *EMBO J.*, **17**, 6932–6941.
- 30) Suetsugu, S., Miki, H., & Takenawa, T. (1999) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **260**, 296–302.
- 31) Fujiwara, I., Suetsugu, S., Uemura, S., Takenawa, T., & Ishiwata, S. (2002) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **293**, 1550–1555.
- 32) Svitkina, T.M. & Borisy, G.G. (1999) *J. Cell Biol.*, **145**, 1009–1026.
- 33) Suetsugu, S., Yamazaki, D., Kurisu, S., & Takenawa, T. (2003) *Dev. Cell*, **5**, 595–609.
- 34) Yamazaki, D., Suetsugu, S., Miki, H., Kataoka, Y., Nishikawa, S., Fujiwara, T., Yoshida, N., & Takenawa, T. (2003) *Nature*, **424**, 452–456.
- 35) Suetsugu, S., Miki, H., Yamaguchi, H., Obinata, T., & Takenawa, T. (2001) *J. Cell Sci.*, **114**, 4533–4542.
- 36) Co, C., Wong, D.T., Gierke, S., Chang, V., & Taunton, J. (2007) *Cell*, **128**, 901–913.
- 37) Kim, A.S., Kakalis, L.T., Abdul-Manan, N., Liu, G.A., & Rosen, M.K. (2000) *Nature*, **404**, 151–158.
- 38) Chen, Z., Borek, D., Padrick, S.B., Gomez, T.S., Metlagel, Z., Ismail, A.M., Umetani, J., Billadeau, D.D., Otwinowski, Z., & Rosen, M.K. (2010) *Nature*, **468**, 533–538.
- 39) Rottner, K., Hanisch, J., & Campellone, K.G. (2010) *Trends Cell Biol.*, **20**, 650–661.
- 40) Firat-Karalar, E.N. & Welch, M.D. (2011) *Curr. Opin. Cell Biol.*, **23**, 4–13.
- 41) Mattila, P.K. & Lappalainen, P. (2008) *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **9**, 446–454.
- 42) Quinlan, M.E., Heuser, J.E., Kerkhoff, E., & Mullins, R.D. (2005) *Nature*, **433**, 382–388.
- 43) Suzuki, T., Miki, H., Takenawa, T., & Sasakawa, C. (1998) *EMBO J.*, **17**, 2767–2776.
- 44) Welch, M.D., Iwamatsu, A., & Mitchison, T.J. (1997) *Nature*, **385**, 265–269.
- 45) Cameron, L.A., Footer, M.J., van Oudenaarden, A., & Theriot, J.A. (1999) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 4908–4913.
- 46) Suetsugu, S., Miki, H., Yamaguchi, H., & Takenawa, T. (2001) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **282**, 739–744.
- 47) Suetsugu, S., Hattori, M., Miki, H., Tezuka, T., Yamamoto, T., Mikoshiba, K., & Takenawa, T. (2002) *Dev. Cell*, **3**, 645–658.
- 48) Sawa, M., Suetsugu, S., Sugimoto, A., Miki, H., Yamamoto, M., & Takenawa, T. (2003) *J. Cell Sci.*, **116**, 1505–1518.
- 49) Kurisu, S., Suetsugu, S., Yamazaki, D., Yamaguchi, H., & Takenawa, T. (2005) *Oncogene*, **24**, 1309–1319.
- 50) Feynman, R.P., Leighton, R.B., & Sands, M. (1966) *The Feynman Lectures on Physics*, vol. 1, chap. 46, Addison-Wesley.
- 51) Suetsugu, S. & Gautreau, A. (2012) *Trends Cell Biol.*, **22**, 141–150.
- 52) Razzaq, A., Robinson, I.M., McMahon, H.T., Skepper, J.N., Su, Y., Zelfhof, A.C., Jackson, A.P., Gay, N.J., & O’Kane, C.J. (2001) *Genes Dev.*, **15**, 2967–2979.
- 53) Peter, B.J., Kent, H.M., Mills, I.G., Vallis, Y., Butler, P.J., Evans, P.R., & McMahon, H.T. (2004) *Science*, **303**, 495–499.
- 54) Suetsugu, S., Murayama, K., Sakamoto, A., Hanawa-Suetsugu, K., Seto, A., Oikawa, T., Mishima, C., Shirouzu, M., Takenawa, T., & Yokoyama, S. (2006) *J. Biol. Chem.*, **281**, 35347–35358.
- 55) Tsujita, K., Suetsugu, S., Sasaki, N., Furutani, M., Oikawa, T., & Takenawa, T. (2006) *J. Cell Biol.*, **172**, 269–279.
- 56) Shimada, A., Takano, K., Shirouzu, M., Hanawa-Suetsugu, K., Terada, T., Toyooka, K., Umehara, T., Yamamoto, M., Yokoyama, S., & Suetsugu, S. (2010) *FEBS Lett.*, **584**, 1111–1118.
- 57) Senju, Y., Itoh, Y., Takano, K., Hamada, S., & Suetsugu, S. (2011) *J. Cell Sci.*, **124**, 2032–2040.
- 58) Ho, H.Y., Rohatgi, R., Lebensohn, A.M., Le, M., Li, J., Gygi, S.P., & Kirschner, M.W. (2004) *Cell*, **118**, 203–216.
- 59) Scita, G., Confalonieri, S., Lappalainen, P., & Suetsugu, S. (2008) *Trends Cell Biol.*, **18**, 52–60.
- 60) Suetsugu, S., Toyooka, K., & Senju, Y. (2010) *Semin. Cell Dev. Biol.*, **21**, 340–349.
- 61) Safari, F. & Suetsugu, S. (2012) *Membranes*, **2**, 91–117.
- 62) Shimada, A., Niwa, H., Tsujita, K., Suetsugu, S., Nitta, K., Hanawa-Suetsugu, K., Akasaka, R., Nishino, Y., Toyama, M., Chen, L., Liu, Z.J., Wang, B.C., Yamamoto, M., Terada, T., Miyazawa, A., Tanaka, A., Sugano, S., Shirouzu, M., Nagayama, K., Takenawa, T., & Yokoyama, S. (2007) *Cell*, **129**, 761–772.
- 63) Frost, A., Perera, R., Roux, A., Spasov, K., Destaing, O., Egelman, E.H., De Camilli, P., & Unger, V.M. (2008) *Cell*, **132**, 807–817.

- 64) Mim, C., Cui, H., Gawronski-Salerno, J.A., Frost, A., Lyman, E., Voth, G.A., & Unger, V.M. (2012) *Cell*, **149**, 137–145.
- 65) Wang, Q., Navarro, M.V., Peng, G., Molinelli, E., Lin Goh, S., Judson, B.L., Rajashankar, K.R., & Sondermann, H. (2009) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 12700–12705.
- 66) Itoh, T., Koshiba, S., Kigawa, T., Kikuchi, A., Yokoyama, S., & Takenawa, T. (2001) *Science*, **291**, 1047–1051.
- 67) Ford, M.G., Mills, I.G., Peter, B.J., Vallis, Y., Praefcke, G.J., Evans, P.R., & McMahon, H.T. (2002) *Nature*, **419**, 361–366.
- 68) Suetsugu, S. (2013) *Semin. Cell Dev. Biol.*, **24**, 267–271.
- 69) Suetsugu, S., Kurisu, S., Oikawa, T., Yamazaki, D., Oda, A., & Takenawa, T. (2006) *J. Cell Biol.*, **173**, 571–585.
- 70) Mattila, P.K., Pykalainen, A., Saarikangas, J., Paavilainen, V. O., Vihinen, H., Jokitalo, E., & Lappalainen, P. (2007) *J. Cell Biol.*, **176**, 953–964.
- 71) McMahon, H.T. & Boucrot, E. (2011) *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **12**, 517–533.
- 72) Taylor, M.J., Perrais, D., & Merrifield, C.J. (2011) *PLoS Biol.*, **9**, e1000604.
- 73) Merrifield, C.J., Perrais, D., & Zenisek, D. (2005) *Cell*, **121**, 593–606.
- 74) Henne, W.M., Boucrot, E., Meinecke, M., Evergren, E., Vallis, Y., Mittal, R., & McMahon, H.T. (2010) *Science*, **328**, 1281–1284.
- 75) Boulant, S., Kural, C., Zeeh, J.C., Ubelmann, F., & Kirchhausen, T. (2011) *Nat. Cell Biol.*, **13**, 1124–1131.
- 76) Parton, R.G. & del Pozo, M.A. (2013) *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **14**, 98–112.
- 77) Parton, R.G. & Simons, K. (2007) *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **8**, 185–194.
- 78) Sinha, B., Koster, D., Ruez, R., Gonnord, P., Bastiani, M., Abankwa, D., Stan, R.V., Butler-Browne, G., Védie, B., Johannes, L., Morone, N., Parton, R.G., Raposo, G., Sens, P., Lamaze, C., & Nassoy, P. (2011) *Cell*, **144**, 402–413.
- 79) Rothberg, K.G., Heuser, J.E., Donzell, W.C., Ying, Y.S., Glenney, J.R., & Anderson, R.G. (1992) *Cell*, **68**, 673–682.
- 80) Schilling, K., Opitz, N., Wiesenthal, A., Oess, S., Tikkanen, R., Muller-Esterl, W., & Icking, A. (2006) *Mol. Biol. Cell*, **17**, 3870–3880.
- 81) Suetsugu, S. & Itoh, Y. (2012) *J. Jpn. Biochem. Soc.*, **84**, 30–35.
- 82) Guerrier, S., Coutinho-Budd, J., Sassa, T., Gresset, A., Jordan, N.V., Chen, K., Jin, W.L., Frost, A., & Polleux, F. (2009) *Cell*, **138**, 990–1004.
- 83) Saengsawang, W., Mitok, K., Viesselmann, C., Pietila, L., Lombard, D.C., Corey, S.J., & Dent, E.W. (2012) *Curr. Biol.*, **22**, 494–501.
- 84) Zoncu, R., Perera, R.M., Balkin, D.M., Pirruccello, M., Toomre, D., & De Camilli, P. (2009) *Cell*, **136**, 1110–1121.
- 85) Knaevelsrud, H., Soreng, K., Raiborg, C., Haberg, K., Rasmussen, F., Brech, A., Liestol, K., Rusten, T.E., Stenmark, H., Neufeld, T.P., Carlsson, S.R., & Simonsen, A. (2013) *J. Cell Biol.*, **202**, 331–349.
- 86) van Weering, J.R., Verkade, P., & Cullen, P.J. (2010) *Semin. Cell Dev. Biol.*, **21**, 371–380.
- 87) Gehart, H., Goginashvili, A., Beck, R., Morvan, J., Erbs, E., Formentini, I., De Matteis, M.A., Schwab, Y., Wieland, F.T., & Ricci, R. (2012) *Dev. Cell*, **23**, 756–768.
- 88) Tarricone, C., Xiao, B., Justin, N., Walker, P.A., Rittinger, K., Gambin, S.J., & Smerdon, S.J. (2001) *Nature*, **411**, 215–219.
- 89) Faelber, K., Held, M., Gao, S., Posor, Y., Haucke, V., Noe, F., & Daumke, O. (2012) *Structure*, **20**, 1621–1628.
- 90) Roux, A., Uyhazi, K., Frost, A., & De Camilli, P. (2006) *Nature*, **441**, 528–531.
- 91) Neumann, S. & Schmid, S.L. (2013) *J. Biol. Chem.*, **288**, 25119–25128.
- 92) Meinecke, M., Boucrot, E., Camdere, G., Hon, W.C., Mittal, R., & McMahon, H.T. (2013) *J. Biol. Chem.*, **288**, 6651–6661.
- 93) Suetsugu, S. (2009) *FEBS Lett.*, **583**, 3401–3404.
- 94) Takano, K., Toyooka, K., & Suetsugu, S. (2008) *EMBO J.*, **27**, 2817–2828.
- 95) Collins, A., Warrington, A., Taylor, K.A., & Svitkina, T. (2011) *Curr. Biol.*, **21**, 1167–1175.
- 96) Li, P., Banjade, S., Cheng, H.C., Kim, S., Chen, B., Guo, L., Llaguno, M., Hollingsworth, J.V., King, D.S., Banani, S.F., Russo, P.S., Jiang, Q.X., Nixon, B.T., & Rosen, M.K. (2012) *Nature*, **483**, 336–340.

著者寸描

●末次志郎 (すえつぐ しろう)



奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科教授。博士(理学)。

■略歴 1974年広島県に生る。97年東京大学理学部卒業。2002年博士(理学)，同年東京大学医科学研究所助手(竹縄忠臣研究室)，東京大学分子細胞生物学研究所を経て，14年より現職。

■研究テーマと抱負 細胞の形態形成と細胞機能の関連の研究を行っています。

特にまだ未解明の細胞におけるナノスケールの分子集合と脂質膜の形態形成の関連に焦点を当てたいと考えています。

■ウェブサイト <http://bsw3.naist.jp/suetsugu/>

■趣味 登山，旅行，スキー。