

古細菌の ESCRT 複合体は細胞分裂に関する

帯田 孝之

1. はじめに

一つの細胞が二つの娘細胞に分裂する細胞分裂 (cell division) は、すべての生物にとってその生命機能の維持に不可欠である。一般に生物は、真核生物、真正細菌、古細菌 (アーキア) の大きく三つの生物界に分けられるが、その細胞分裂メカニズムもそれぞれ異なっている。細胞分裂の最終ステップである細胞質分裂 (cytokinesis) において、細胞膜は内側へとくびれて膜どうしが融合し、最終的に切り離されるという膜の再構築 (membrane remodeling) が起こる。最も精力的に研究されている真核細胞においてもこの過程には不明な点が多いが、近年、この細胞膜の再構築過程に ESCRT (endosomal sorting complex required for transport) 複合体が重要な役割を果たしていることが報告された^{1,2)}。さらに、スルフォロブス目 (sulfolobales order) の古細菌に ESCRT 複合体の主要因子である ESCRT-III と Vps4 が保存されており、細胞分裂に重要な役割を持っていることが示された^{3,4)}。本稿では、古細菌にのみ存在する第3の ESCRT タンパク質 CdvA に関する最近の報告とあわせて、古細菌の細胞分裂における ESCRT 複合体の役割について概説する。

2. 真核生物における ESCRT 複合体の役割について

真核生物における ESCRT 複合体は、酵母の多胞体 (MVB: multi-vesicular body) の形成に関与するタンパク質群として同定された。続いて、HIV-1 等のレトロウイルスの宿主細胞からの出芽に、ESCRT 複合体が必須であることが明らかとなった。さらに、ESCRT 複合体は細胞質分裂の最後のステップである、細胞膜をくびれさせ切り離す際にも重要な役割を果たしていることが報告された^{1,2)}。これらの三つの独立した機能は、一見するとまったく異なる機能のようにもみえるが、細胞質に接する膜をくびれさせ

切り離す (membrane scission) という点において、トポロジ的に共通している。

多胞体経路 (MVB pathway) における ESCRT 複合体は、ESCRT-0, -I, -II, -III の四つのサブ複合体がそれぞれ異なる役割を果たしている。それぞれのタンパク質は、タンパク質・タンパク質相互作用、およびタンパク質・脂質相互作用により、細胞質からエンドソーム膜上へと誘導される。そのうち、ESCRT-0, -I, -II サブ複合体は、主に基質タンパク質の認識や、膜に相互作用してくびれを作る役割を持っていると考えられている。一方、ESCRT-III サブ複合体は、AAA-ATP アーゼである Vps4 を膜上へと誘導し、細胞膜を切り離す役割を担っていると考えられている。近年、米国の Hurley らは、*in vitro* で組み換え ESCRT 複合体を用いて人工リボソームに内腔小胞を形成させる再構成実験を行った。そして、内腔小胞形成の最後のステップである膜の切り離しを、ESCRT-III サブ複合体が主に担っていることを示した。同時に、Vps4 は膜上に局在している ESCRT 複合体を膜から解離させる役割を担い、それらのリサイクリングを行うことで複数の内腔小胞を効率的に形成させていることを明らかにした^{5,6)}。

ヒトの細胞では、細胞質分裂の最後のステップにおいて分裂する二つの娘細胞の間に細くくびれた中央体 (mid-body) が形成される。ESCRT 複合体は、CEP55 や ALIX などの分子との相互作用により中央体へと誘導される。電子顕微鏡を用いた実験から、ヒトの細胞において、中央体のそばにらせん状の線維状構造が報告されている⁷⁾。これは、ESCRT-III サブ複合体からなる線維が細胞膜を内側から絞り、続いて細胞膜が切り離される細胞質分裂の直前を捉えていると考えられている。

3. 古細菌の細胞分裂に関わると予想される因子について

古細菌では、クレンアーキオータ (crenarchaeota)、ユーリアーキオータ (euryarchaeota)、タウムアーキオータ (thaumarchaeota)、ナノアーキオータ (nanoarchaeota)、およびコルアーキオータ (thaumarchaeota) の五つの門 (phylum) が同定されている。これまでにユーリアーキオータ門、タウムアーキオータ門、およびコルアーキオータ門に

富山大学大学院医学薬学研究部 (薬学) (〒930-0194 富山県富山市杉谷 2630)

A role for crenarchaeal ESCRT system in cell division
Takayuki Obita (Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of Toyama, 2630 Sugitani, Toyama 930-0194, Japan)

は、真正細菌に広く保存されている FtsZ ホモログが見つかっており、これらの古細菌では真正細菌型の細胞分裂メカニズムを持つことが予測されている。大腸菌等の真正細菌の細胞分裂は比較的良好に研究されており、細胞分裂の際に二つの娘細胞の間に FtsZ リングと呼ばれる収縮環を形成する。FtsZ は、真核生物の細胞骨格タンパク質・チューブリンのホモログであり、その高次構造もチューブリンときわめて類似している。また、FtsZ は GTPase 活性を持っており、自己重合して FtsZ リングを形成し、このことが細胞分裂の駆動力であることがわかっている。

一方、これまでクレンアーキオータ門のほとんどに FtsZ ホモログが見つかっておらず、どのような細胞分裂メカニズムを持つのか不明であった。しかしながら近年、スルフォロブス目の *Sulfolobus acidocaldarius* 株に真核生物の ESCRT 複合体のホモログが発見された。続いて、同株の ESCRT 複合体が細胞分裂に重要であり、真核細胞にみられる ESCRT-III 型の細胞分裂を行うことが報告された。詳細は、次節以降で解説する。

また、クレンアーキオータ門のサーモプロテウス (*thermoproteales*) 目の古細菌には、これまで FtsZ も ESCRT 複合体も見つかっていなかったが、近年アクチン様タンパク質の存在が確認されている。ヒトなどの真核生物では、収縮環によって細胞がくびれた分裂溝が生じ、細胞質分裂が進行する。アクチンとミオシンも収縮環を構成しており、細胞膜を細胞の内側へと引っ張る役割を果たしていると考えられている。さらに、細胞分裂の際に新しく合成された細胞膜の再構築も、収縮環の移動と連動して行われると考えられている。おそらくサーモプロテウス目の古細菌は、アクチンを用いた真核生物型の細胞分裂メカニズムを持つ

と予測されている。

古細菌の細胞分裂には、真正細菌型 (FtsZ 型)、ESCRT-III 型およびアクチン型の三つの細胞分裂メカニズムがあると考えられている^{8,9)}。ヒトなどの真核生物では、それらを組み合わせ、より複雑なメカニズムで細胞分裂が行われていると考えられている。

4. 古細菌の ESCRT 複合体は細胞分裂に関与する

近年のゲノム配列解析の進展とともに、クレンアーキオータ門の古細菌に ESCRT-III と Vps4 のホモログが存在することがわかってきたが、数年ほど前までその役割は明らかではなかった。ESCRT 複合体は、以前は酵母を用いた多胞体経路を中心に研究が行われてきたが、古細菌にはエンドソームに相当する細胞内小器官 (オルガネラ) が確認されていないのがその大きな理由であった。しかしながら、2008 年に大きなブレイクスルーとなる研究が二つのグループにより報告された^{3,4)}。まず、スルフォロブス目の古細菌についての研究から、細胞分裂の進行に応じて ESCRT-III と Vps4 の mRNA の量が極大を示した。さらに、細胞分裂の際に ESCRT-III と Vps4 の両方が分裂している核様体の間に局在し、環状構造をとっていた。また、Vps4 の酵素活性を失活させた変異体を過剰発現させることで、「巨大細胞の出現・多核細胞・無核細胞」等の細胞分裂に異常を来す表現型が確認された。これらの結果より、古細菌の ESCRT 複合体が細胞分裂に重要な役割を果たしていることが報告された。同時に、古細菌の Vps4-ESCRT-III 複合体の立体構造が決定され (図 1)、その相互作用様式が 20 億年の進化の時を超えてヒトや酵母におけ

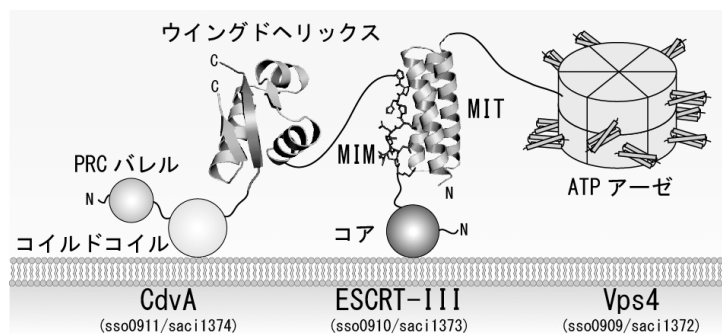


図 1 古細菌の ESCRT 複合体

これまでに古細菌の ESCRT 複合体タンパク質として Vps4 (sso0909/saci1372)、ESCRT-III (sso0910/saci1373) および CdvA (sso0911/saci1374) が同定されている。Vps4 の MIT ドメインと ESCRT-III の MIM モチーフ (PDBID: 2W2U)、ESCRT-III のウイングドヘリックス様ドメインと CdvA の C 末端領域 (PDBID: 2XVC) が相互作用し、これまでにそれぞれの複合体構造が決定されている。ATP アーゼ (Vps4)、コア (ESCRT-III)、PRC バレル (CdvA)、コイルドコイル (CdvA) は、それぞれドメインを示している。

る両者の結合様式¹⁰⁻¹²⁾とはほぼ一致することが示された。

真核生物の ESCRT 複合体には, ESCRT-III を膜へと導くほかのサブ複合体 (ESCRT-0, -I, -II など) が存在しているが, 古細菌には現在までにそれらのホモログ分子は見つかっていない。しかしながら最近, ESCRT-III を膜へと誘導する第3の ESCRT タンパク質として CdvA が同定された¹³⁾。細胞分裂時に, CdvA は核様体の分配開始前に環状構造を形成し, その後 ESCRT-III を細胞分裂の場へと誘導する役割を担っていることが示された。

これまでに古細菌の ESCRT 複合体は, ESCRT-III, Vps4, CdvA の三つしか同定されておらず, 分裂する二つの細胞の中心の位置がどういったメカニズムで決定されているのかは明らかとなっていない。興味深いことに, 電子顕微鏡を用いた実験により, スルフォロブス目の *Metallosphaera sedula* 株の CdvA が DNA の存在下でらせん状の線維構造を形成することが最近報告された¹⁴⁾。このことは, CdvA は核様体の分配開始に前後して膜に結合した線維構造を形成し, そこが足場となって ESCRT-III を導くことで細胞膜の再構築・切り離しが行われていることを意味しているのかもしれない。

5. 古細菌の ESCRT 複合体の立体構造

図1に示すように, Vps4 は, AAA-ATP アーゼであり N 末端に MIT (microtubule interaction and transport) ドメイン, C 末端に ATP アーゼドメインを持つ。真核生物の Vps4 は, ATP アーゼドメインが6量体の環状構造をとりさらにその6量体が二つ重なった12量体構造をとることが示唆されている。また, N 末端の MIT ドメインは, ESCRT-III と直接結合する役割を果たしている。ESCRT-III は, コイルドコイル様の構造を持つコアドメインと, 中央に Vps4-MIT ドメインと結合する MIM (MIT interacting motif) モチーフ, C 末端にウイングドヘリックス様ドメインを持つ。Vps4 と ESCRT-III の複合体の立体構造は, 図1に示すように MIT ドメインの3本のヘリックスが複数のプロリン残基からなる MIM モチーフと結合する様式であった。また, CdvA は, その一次配列情報から, N 末端に70残基ほどの PRC バレルドメイン (1~70), 続いて複数の α ヘリックスからなるコイルドコイルドメイン (71~208), および比較的一次配列がよく保存された C 末端領域 (209~238) からなることが予測されている。相互作用解析の結果, ESCRT-III のウイングドヘリックス様ドメインと, CdvA の C 末端領域が相互作用することが明らかとなり, その複合体の立体構造が決定された¹³⁾。それは, CdvA の C 末端領域が β ストランド構造をとり, ESCRT-III のウイングドヘリックス様ドメインの2本の β ストランド構造の間にはまり込むことで分子間の β シート構造

を形成するという非常にユニークな立体構造であった。興味深いことに, 真核細胞の ESCRT-II サブ複合体は複数のウイングドヘリックスドメインからなり, さらに ESCRT-III を膜へとリクルートする役割を担っている。古細菌の ESCRT-III は, あたかも真核生物の ESCRT-II と ESCRT-III が合体したかのようなタンパク質であり, ESCRT-III の膜への誘導にウイングドヘリックスドメインの完成が必要という点は, 大変興味深い。

6. おわりに

古細菌の ESCRT 複合体は三つのタンパク質 (およびそのパラログ) しか存在が確認されておらず, 今後の研究でさらにその数が増える可能性はあるが, 現在のところ最も単純な ESCRT 複合体といえることができる。特に細胞分裂メカニズムに関して, 今後の研究によってそのシンプルな機能の詳細が明らかとなれば, 高等な真核生物が持つ, より複雑な細胞分裂メカニズムの理解が深まることが期待される。

- 1) Carlton, J.G. & Martin-Serrano, J. (2007) *Science*, 316, 1908-1912.
- 2) Morita, E., Sandin, V., Chung, H.Y., Morham, S.G., Gygi, S.P., Rodesch, C.K., & Sundquist, W.I. (2007) *EMBO J.*, 26, 4215-4227.
- 3) Lindas, A.C., Karlsson, E.A., Lindgren, M.T., Ettema, T.J.G., & Bernander, R. (2008) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 105, 18942-18946.
- 4) Samson, R.Y., Obita, T., Freund, S.M., Williams, R.L., & Bell, S.D. (2008) *Science*, 322, 1710-1713.
- 5) Wollert, T., Wunder, C., Lippincott-Schwartz, J., & Hurley, J.H. (2009) *Nature*, 458, 172-177.
- 6) Wollert, T. & Hurley, J.H. (2010) *Nature*, 464, 864-873.
- 7) Guizetti, J., Schermelleh, L., Mäntler, J., Maar, S., Poser, I., Leonhardt, H., Müller-Reichert, T., & Gerlich, D.W. (2011) *Science*, 331, 1616-1620.
- 8) Makarova, K.S., Yutin, N., Bell, S.D., & Koonin, E.V. (2010) *Nat. Rev. Microbiol.*, 8, 731-741.
- 9) Samson, R.Y. & Bell, S.D. (2011) *Curr. Opin. Microbiol.*, 14, 350-356.
- 10) Obita, T., Saksena, S., Ghazi-Tabatabai, S., Gill, D.J., Perisic, O., Emr, S.D., & Williams, R.L. (2007) *Nature*, 449, 735-739.
- 11) Stuchell-Breerton, M.D., Skalicky, J.J., Kieffer, C., Karren, M.A., Ghaffarian, S., & Sundquist, W.I. (2007) *Nature*, 449, 740-744.
- 12) Kieffer, C., Skalicky, J.J., Morita, E., De Domenico, I., Ward, D.M., Kaplan, J., & Sundquist, W.I. (2008) *Dev. Cell*, 15, 62-73.
- 13) Samson, R.Y., Obita, T., Hodgson, B., Shaw, M.K., Chong, P.L., Williams, R.L., & Bell, S.D. (2011) *Mol. Cell*, 41, 186-196.
- 14) Moriscot, C., Gribaldo, S., Jault, J.M., Krupovic, M., Arnaud, J., Jamin, M., Schoehn, G., Forterre, P., Weissenhorn, W., & Renesto, P. (2011) *PLoS One*, 6, e21921.

著者寸描

●**帯田孝之** (おびた たかゆき)

富山大学大学院医学薬学研究部 (薬学) 准教授, 博士 (薬学).

■**略歴** 1997年九州大学薬学部卒業. 2002年同大学大学院薬学研究院博士課程修了. 02年九州大学生体防御医学研究所博士研究員. 05年英国医学研究評議会分子生物学研究所博士研究員, 10年より現職.

■**研究テーマ** 膜輸送関連タンパク質の構造基盤研究.

■**抱負** 生命現象の理解のために, 立体構造決定が大きなブレークスルーとなるような研究をおし進めたい.

■**ホームページ** <http://www.pha.u-toyama.ac.jp/phypha2/index-j.html>

■**趣味** スキー, 囲碁.