

## 2022 年度 若手・女性研究者奨励金 レポート

|       |   |
|-------|---|
| 研究課題  | <b>微小管結合タンパク質 MAP2 の特異的局在制御メカニズムの解明</b> |
| キーワード | ① タンパク質の局在、② タンパク質の輸送、③ MAP2            |

### 研究者の所属・氏名等

|                             |   |
|-----------------------------|---|
| フリガナ<br>氏名                  | ヨネムラ ヨウジ<br>米村 洋而   |
| 配付時の所属先・職位等<br>(令和4年4月1日現在) | 同志社大学 研究開発推進機構・助教   |
| 現在の所属先・職位等<br>(令和5年7月1日現在)  | 同志社大学 研究開発推進機構・助教   |
| プロフィール                      | 大学院卒業後ドイツのイエナで5年間のポスドクを経て帰国。大学院時代のテーマとは全く異なる、細胞内でのタンパク質の輸送制御について研究を行い2019年に帰国。2019年から同志社大学脳科学研究科で、神経細胞におけるタンパク質の輸送の制御について研究を開始。 |

### 1. 研究の概要

神経細胞で合成される MAP2 と呼ばれるタンパク質は細胞体、樹状突起に限定して存在する一方、軸索にはほとんど存在しないことが知られている（次頁図参照）。この特徴的な局在から、MAP2 は神経細胞の細胞体・樹状突起マーカーとして世界中で認識されている（MAP2 の存在するところが細胞体・樹状突起であると考えられている）。しかし、どのように MAP2 の特異的な局在が制御されているのかについては長い間未解明であった。

本研究では、この問題を解決するために MAP2 の領域を制御している領域の特定、その領域がどういったメカニズムで局在制御に関わっているのかについて研究を行い、MAP2 は MAP2 がもつある領域依存的にモータータンパク質によって運ばれることによって、細胞体・樹状突起に限定的に存在することをはじめて明らかにした。

### 2. 研究の動機、目的

哺乳類細胞では1分間におよそ1千万個ものタンパク質が合成される。これら膨大な量のタンパク質が適切なタイミングで適切な場所に局在することで細胞は正しく機能することができる。タンパク質の輸送・局在化の制御機構はタンパク質自身もつシグナル配列の発見によって理解が進んできた。その後、核に局在するタンパク質にも核局在化シグナルが存在することが明らかとなった。このような局在化シグナルをもつタンパク質はシグナルを認識するタンパク質によって運ばれることで適切に局在化される。つまり、タンパク質自身に宛先が刻まれていて、宛先を認識する別のタンパク質によって運ばれていることが明らかとなった。タンパク質の局在化が適切になされないと病気になることも知られている。例えば、LDL 受容体のシグナル配列に変異があることで高コレステロール血症になることや、インスリンのシグナル配列の変異によって糖尿病になることなどが報告されている。このようにタンパク質が正しく局在を制御されることは非常に重要であると考えられる。

本研究では、局在制御機構について理解が進んでいない細胞質に存在するタンパク質のうち、神経細胞に発現する微小管結合タンパク質 MAP2 がなぜ細胞体・樹状突起に特異的に局在

するのか、そのメカニズムを解明することを目的とした。

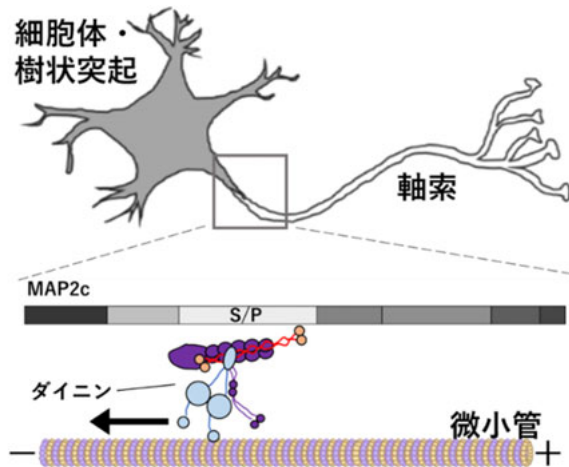
### 3. 研究の結果

MAP2 をアミノ酸配列の特徴に応じて7つのドメインに分けて、それらの領域を欠損させた変異型 MAP2 を作製し神経細胞に発現させた。これらの7つの変異体の局在と野生型 MAP2 の局在を比較した結果、セリンとプロリンに富む領域を欠損させた変異型は野生型がほとんど局在しない軸索にも局在するという結果を得た。

軸索内で細胞体方向にタンパク質を運ぶモータータンパク質が MAP2 を細胞体方向へ運んでいるのではないかと仮説を立て、この仮説を検証するためにモータータンパク質ダイニンの阻害剤で神経細胞を処理し、MAP2 の局在を観察した。その結果、阻害剤処理により MAP2 が軸索にも観察されるようになった。さらに、ダイニンのノックダウン（新規のダイニン合成を阻害）を行った結果、阻害剤処理と同様に MAP2 の局在が軸索にも観察された。

以上の結果から、MAP2 のセリン・プロリンに富む配列を介してダイニンが MAP2 を細胞体方向に輸送しているのではないかと考えた。この仮説の検証のためにセリン・プロリンに富む領域を欠損した MAP2 とダイニンの相互作用が、野生型 MAP2 とダイニンの相互作用に比べてどう変化するかを共免疫沈降実験によって確かめた。その結果、ダイニンと MAP2 の相互作用は MAP2 のセリン・プロリン領域を欠損すると約 50%低下することを見出した。

以上の結果から、MAP2 が神経細胞において細胞体・樹状突起に特異的に局在するのは、モータータンパク質であるダイニンが、MAP2 のセリン・プロリン領域を介して軸索内で MAP2 を細胞体方向に輸送しているからであると結論づけた。



### 4. 研究者としてのこれからの展望

今回の実験により、MAP2 が適切な場所に存在するためのメカニズムを明らかにできた。一方、新たな疑問も生まれてきた。例えば、モータータンパク質ダイニンは他にもいくつもタンパク質を運んでいるが、いくつも存在する積み荷をどのように識別するのか？MAP2 とよく似たタンパク質である Tau は Tau の異常リン酸化によって局在が変化し、アルツハイマー病などの神経変性疾患に関わるが、MAP2 でもリン酸化や局在の変化によって神経変性疾患に関わり得るのか？

また、今回のタンパク質の局在制御の仕組みだけではなく、私自身が不思議だと感じる生命現象について、そのメカニズムを解明していきたい。そのような研究成果が、他の研究者や一般の人の何らかの役に立てば幸いである。

### 5. 支援者（寄付企業等や社会一般）等へのメッセージ

この度は本奨励金に採択していただき、ご寄付いただきました企業様、関係者の皆様、日本私立学校振興・共済事業団の方々には深く感謝申し上げます。研究に必要な試薬類を購入できたことにより、より一層研究に取り組むことができ、以前より行いたいと考えていた実験を行うことができ、非常に有意義な実験結果をもたらすことができたと考えております。

競争的資金全般を考えると、科研費を獲得していない研究者が得られる本奨励金のような助成金は珍しく、且つこのような救済的性質のある助成金は、若手研究者にとって非常に意義があり、私自身も研究を遂行するにあたり非常に助けられました。今後もこれまで取り組んできた研究をもとに新しい疑問や解決が望まれている問題に取り組み、研究データを基に社会還元できるよう邁進してまいります。