

## 細胞間接着制御系の網羅的解析

●深田 正紀 ◆天野 睦紀

名古屋大学大学院医学系研究科

### 〈研究の目的と進め方〉

個体発生過程や組織の再構築時にはcadherinを介した細胞間接着のダイナミックな再構築が重要な役割を果たしている。このような細胞間接着の再構築には、空間的位置情報と時間情報が正確に細胞内に伝達、統合され、接着装置が再構築されることが必須である。しかし、その分子メカニズムは長らく不明であった。最近、私共は低分子量GTP結合蛋白質Rhoファミリー (Rac1, Cdc42) と標的蛋白質IQGAP1がcadherinを介した細胞間接着を制御していることを明らかにした。しかし、これら限られた分子にのみ焦点をあてたアプローチだけでは細胞間接着の制御に関わる分子を網羅的には解析できない。human ゲノムの全情報が明らかとなった現時点では、細胞間接着に関わる分子をより網羅的に同定し、性状解析していくことが可能となってきた。そこで、本研究では細胞間接着の分子基盤をより網羅的に明らかにすることを目的とする。

### 〈研究開始時の研究計画〉

- 1) 既知の細胞間接着制御蛋白質であるIQGAP1とbeta-catenin結合蛋白質をアフィニティーカラムクロマトグラフィーや免疫沈降を用いて同定していく。
- 2) 細胞間接着の各ステージ（接着初期、接着維持期、接着破壊期）に特異的な細胞間接着制御蛋白質を同定していく。
- 3) RNAiを用いて細胞間接着制御蛋白質の性状解析を行う。

### 〈研究期間の成果〉

- 1) 細胞間接着制御蛋白質IQGAP1の新規結合蛋白質として微小管のプラス端に濃縮するCLIP-170を同定し、微小管の細胞表層での捕捉機構を明らかにした（文献1 Fukata, M. et al, Cell, 2002）。
- 2) beta-catenin結合蛋白質として KIAA0705を、KIAA0705結合蛋白質としてPDZ-GEF(Rap1GEF)を同定した。さらに、PDZ-GEF結合蛋白質を数種類同定し、低分子量GTP結合蛋白質Rap1シグナルの細胞間接着における役割を明らかにした。
- 3) IQGAP1やRhoファミリーのRNAiを用いた解析結果からIQGAP1が細胞間接着形成に必要であることを明らかにした（文献4 Noritake J. et al, Mol. Biol. Cell, 2004）。

### 〈国内外での成果の位置づけ〉

細胞間接着制御蛋白質を網羅的に同定しようとする試みは世界的に例を見ず、非常にユニークなアプローチであると位置づけられる。

### 〈達成できなかったこと、予想外の困難、その理由〉

細胞間接着の各ステージに特異的な細胞間接着制御蛋白質の精製は順調に進められていたが、網羅的同定にまでは到達しなかった。その理由として研究代表者が海外留学のため研究実施期間が1年間となったため。

### 〈今後の課題〉

精製した細胞間接着の各ステージに特異的な制御蛋白質を質量分析法にて同定し、それら蛋白質の性状解析をRNAi法を用いて進めていく。一方、Ca<sup>2+</sup>スイッチ法により細胞間接着を再構築させた際の上記蛋白質の細胞内局在の動態を検討し、各制御蛋白質の生理的機能を明らかにしていく。

### 〈研究期間の全成果公表リスト〉

1. Fukata, M., Watanabe, T., Noritake, J., Nakagawa, M., Yamaga, M., Kuroda, S., Matsuura, Y., Iwamatsu, A., Perez, F., Kaibuchi, K.: Rac1 and Cdc42 Capture Microtubules through IQGAP1 and CLIP-170, Cell, 109, 873-885 (2002).
2. Fukata, M., Nakagawa, M., Kuroda, S., and Kaibuchi, K.: Effects of Rho family GTPases on cell-cell adhesion, Methods Mol. Biol., 189, 121-128 (2002).
3. Fukata, M., Nakagawa, M., and Kaibuchi, K. The roles of Rho family GTPases in cell polarization and directional migration, Curr. Opin. Cell Biol., 15, 590-597 (2003).
4. Noritake J., Fukata M., Sato K., Nakagawa M., Watanabe T., Izumi N., Wang S., Fukata Y., and Kaibuchi K. Positive Role of IQGAP1, an Effector of Rac1, in Actin-Meshwork Formation at Sites of Cell-Cell Contact, Mol. Biol. Cell, 15, 1065-1076 (2004).