

研究テーマ (和文) AB		力学・生化学シグナル変換を担う $\alpha$ -カテニンの分子機構解明			
研究テーマ (欧文) AZ		Elucidation of molecular behaviors of $\alpha$ -catenin as a mechanical-chemical transducer			
研究氏 代表名 者	カカナ CC	姓) アダチ	名) タイジ	研究期間 B	2013 ~ 2014 年
	漢字 CB	安達	泰治	報告年度 YR	2014 年
	ローマ字 CZ	ADACHI	TAIJI	研究機関名	京都大学再生医科学研究所
研究代表者 CD 所属機関・職名		京都大学再生医科学研究所 教授			
概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)					
<p><math>\alpha</math>-カテニンは、接着結合の構成要素であり、張力作用下でビンキュリンを誘導することにより、力学-生化学変換センサとして機能することが示唆されている。このことから、本研究では、細胞の張力感知における<math>\alpha</math>-カテニンの分子機構を1分子レベルで解明することを目的とした。</p> <p>本研究では、「細胞は、<math>\alpha</math>-カテニンを介して張力を感知する」との仮説を検証した。さらに、<math>\alpha</math>-カテニンはビンキュリンに対する自己阻害構造を有することが知られているため、次の二段階の仮説を立てた。</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・仮説1「張力の作用が、<math>\alpha</math>-カテニンの自己阻害構造を解放する」。</li> <li>・仮説2「自己阻害構造の解放により、<math>\alpha</math>-カテニンがビンキュリンを誘導する」。</li> </ul> <p>実験手法として、これまで研究室で確立してきた1分子引張力学測定法：AFM ナノフィッシングを基盤とし、AFM と TIRFM (全反射顕微鏡) を複合した実験系を新たに構築した。</p> <p>(検証1) 仮説「<math>\alpha</math>-カテニンが張力作用下で自己阻害構造を解放する」を検証する</p> <p><math>\alpha</math>-カテニンが自己阻害構造を形成する上で重要なアミノ酸残基の相互作用を抑えた変異型<math>\alpha</math>-カテニンの挙動を AFM ナノフィッシングで解析した。その結果、野生型<math>\alpha</math>-カテニンのフォースカーブ(力-伸び量関係)で観察された初期のピークが変異型<math>\alpha</math>-カテニンのフォースカーブでは観察されなかった。このことから、<math>\alpha</math>-カテニンはごく初期の張力作用下で自己阻害構造を解放する力学的なスイッチとして機能することが示唆された。本結果をまとめた英語論文1編を投稿準備中である。</p> <p>(検証2) 仮説「<math>\alpha</math>-カテニンが自己阻害構造の解放によりビンキュリンを誘導する」を検証する</p> <p>蛍光標識されたビンキュリン溶液中で<math>\alpha</math>-カテニンのナノフィッシングを行い、同時に、TIRFM でビンキュリン分子の誘導を観察する実験を行った。その結果、準備段階のデータではあるが、張力作用下の<math>\alpha</math>-カテニン分子がビンキュリン分子を誘導する動画の取得に成功した。本手法は1分子の力学・生化学的特性を同時に解析する手法として応用が期待でき、現在、英語論文投稿の公表に向け、データの解析を進めている。</p>					
キーワード FA	$\alpha$ -カテニン	ナノフィッシング	原子間力顕微鏡	ナノバイオメカニクス	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>	A F Mでメカノセンサー1分子を釣り上げる							
	著者名 <sup>GA</sup>	牧功一郎 他	雑誌名 <sup>GC</sup>	細胞工学					
	ページ <sup>GF</sup>	9 1 7 ~ 9 2 1	発行年 <sup>GE</sup>	2	0	1	4	巻号 <sup>GD</sup>	9
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	~	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	~	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	

#### 欧文概要<sup>EZ</sup>

In many fundamental processes such as morphogenesis and wound healing, cells cooperatively generate local force in order to drive tissue deformation and purse string activity. Local force between cells is maintained by intercellular adherens junction (AJ), which adapts its size and stability to applied force from adjacent cells.  $\alpha$ -Catenin, a component molecule of AJ, plays key roles as a mechanical-chemical transducer recruiting vinculin under tension for remodeling AJ formation. Although the roles of  $\alpha$ -catenin as a transducer have been reported by molecular biology study, its mechanical behaviors remain unclear at molecular level.

In this study, we analyzed the mechanical behaviors of  $\alpha$ -catenin based on single-molecule AFM (atomic force microscopy) nanofishing, a method for directly loading single biomolecules. In order to observe binding reaction of vinculin to  $\alpha$ -catenin during nanofishing, we combined AFM nanofishing method with single-molecule observation by TIRFM (total internal reflection fluorescence microscopy).

First, as a result of AFM nanofishing using mutant  $\alpha$ -catenin molecule without the auto-inhibited structure, we revealed that the mechano-sensitive domain opens its auto-inhibited structure in the initial behavior under tension, referred to “switching” in our study. This result is going to be submitted to a journal for publication. Second, we succeeded to observe the binding reaction of vinculin to  $\alpha$ -catenin in AFM-TIRFM combined system. Although this result is yet preliminary, we believe that our method has a potential to uncover a new cellular function from a single-molecule experiment. We are pursuing the experiments for publication in journal.