

【目的】 微小管結合蛋白質 Collapsin Response Mediator Protein 2 (CRMP2) は、微小管への作用を介して、神経細胞の軸索突起の形成および伸長 (軸索誘導) に関わることが報告されている。一方で CRMP2 はセマフォリンシグナル経路の下流因子であり、この経路により CRMP2 の C 末端ドメイン (テイルドメイン) がリン酸化を受けると、成長円錐が崩壊して軸索が退縮する (軸索反発)。つまり、CRMP2 は軸索の誘導因子であり、またリン酸化後の CRMP2 は軸索の反発因子として作用すると考えられている。そこで本研究では、CRMP2 がどのように神経細胞の軸索形成に関わり、またそのリン酸化により何故軸索が退縮するのか、神経細胞の分化、極性形成における根本的な生命原理を解明することを目的とする。そのために、CRMP2 の直接の相互作用部位である微小管に対する CRMP2 の作用を生化学的および細胞生物学的手法を用いて解明し、さらにその結果をもとに、原子レベルから細胞レベルまでのさまざまな構造解析手法を駆使し、その構造基盤を明らかにする。

【方法】 *in vitro*、細胞内 (COS7 細胞、培養神経細胞)、線虫個体内において、CRMP2 が微小管の重合、脱重合にどのような影響を及ぼすのかについて観察するとともに、その機能ドメインを調べた。またリン酸化 CRMP2 による変化も同様に観察した。続いて、CRMP2 の機能ドメインを用いた構造解析に移行した。野生型および擬似リン酸化型の CRMP2 を用い、X 線結晶解析を用いた原子レベルの構造解析、X 線小角散乱を用いた分子レベルの溶液構造解析、そして蛍光顕微鏡やクライオ電子顕微鏡を併用した超分子複合体～細胞レベルの構造解析を併用した。

【結果】 CRMP2 による軸索誘導・反発の詳細な分子機構が明らかとなってきた。CRMP2 は神経細胞の発生段階において、将来の軸索突起の先端に局在する。ここで CRMP2 は tubulin と一時的な 1 : 1 複合体を形成することにより、tubulin を効率よく微小管に取り込ませ、軸索特有の「軸索型微小管」(GTP 型微小管) の重合を促す。この結果、軸索型微小管を豊富に有する突起を効率的に伸長させることで軸索伸長を誘導し、神経細胞極性形成に大きく寄与する。微小管モーターキネシンは、CRMP2 が誘導した「軸索型微小管」を道標として軸索突起に侵入し、選択的な物質輸送を行う。これらの CRMP2 の微小管への効果は CRMP2-tubulin 複合体の形成により生じるため、CRMP2 の tubulin 結合面にアミノ酸点変異を導入すると、CRMP2 の機能は全てキャンセルされた。また、CRMP2 が C 末端部にリン酸化を受けると、CRMP2 と tubulin との静電的反発により複合体形成が阻害され、軸索型微小管の誘導効果が消失するのみならず微小管が不安定化され、軸索誘導から反発へとシグナルが切り替わる。

CRMP2 の軸索誘導モデル

