

2023 年度年次報告書

細胞内現象の時空間ダイナミクス

2022 年度採択研究代表者

白水 美香子

理化学研究所 生命機能科学研究センター

チームリーダー

クライオ電顕による DOCK シグナルソームの動的構造の解明

主たる共同研究者:

細谷 孝充 (東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 教授)

山内 淳司 (東京薬科大学 生命科学部 教授)

研究成果の概要

細胞形態変化を司る Rho ファミリー低分子量 G タンパク質の活性化因子 DOCK (Dedicator of cytokinesis) は神経発生や免疫など様々なプロセスで重要な役割を果たしている。DOCK ファミリーの約半数は、ELMO(Engulfment of cell motility)と複合体を形成し、細胞質から細胞膜へ局在を変化させて G タンパク質 Rac を活性化すると考えられているが、その実態は捉えられていないため、シグナロソーム形成のメカニズム、情報伝達の実態、細胞形態変化への関与を分子レベルで解明することを目的として実験を行った。

本年度は、DOCK5/ELMO1 のアポ型、および上下流の G タンパク質である RhoG、Rac1 との複合体のクライオ電顕構造を詳細に解析した。RhoG/DOCK5/ELMO1/Rac1 複合体では、DOCK5 の PIP3 結合部位と RhoG の C 末端脂質修飾部位は同じ方向に並んでおり、RhoG と DOCK5/ELMO1 が同時に細胞膜に結合できることが示唆された。また、アポと RhoG が結合した状態の構造比較から、RhoG が DOCK5/ELMO1 の閉じた状態から開いた状態への構造変化を促進することが明らかになった。一方、ELMO1 の RhoG 結合ドメインを PPI (protein-protein interaction) 阻害因子として応用することで、高次脳機能障害に起因した神経細胞の過剰な突起伸長や Rac1 の活性化を抑制し、正常な状態まで回復させることができた。また、cryo-ET 測定において細胞内での位置情報を得るための標的タンパク質の重原子での効率的な標識手法の確立を目指し、アジド基及びアミノ基を持つ金ナノクラスターの合成法を開発した。本手法を応用し、HaloTag リガンド部位を連結した金ナノクラスターの合成にも成功した。

【代表的な原著論文情報】

- 1) "Clickable bisreactive small gold nanoclusters for preparing multifunctionalized nanomaterials: application to photouncaging of an anticancer molecule" Watanabe K, Mao Q, Zhang Z, Hata M, Kodera M, Kitagishi H, Niwa T, and Hosoya T. Chemical Science (Royal Society of Chemistry: 2010) 15(4): 1402-1408 (2024).
- 2) "RhoG-Binding Domain of Elmo1 Ameliorates Excessive Process Elongation Induced by Autism Spectrum Disorder-Associated Sema5A" Okabe M, Miyamoto Y, Ikoma Y, Takahashi M, Shirai R, Kukimoto-Niino M, Shirouzu M, and Yamauchi J. Pathophysiology 30(4): 548-566 (2023).