

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

鈴木 淳

京都大学 高等研究院
教授

高次構造体連関が制御する脂質スクランブルシステム

主たる共同研究者:

阿部 一啓 (名古屋大学 細胞生理学研究センター 准教授)

石綿 整 (量子科学技術研究開発機構 量子生命科学研究所 主任研究員)

研究成果の概要

本年度は昨年度に引き続き細胞膜スクランブラーゼ Xkr4 の解析について進めた。これまでに XRCC4 の断片が Xkr4 のダイマーに結合することで活性化前段階に入り、細胞外からのカルシウムが膜貫通領域に結合し transmembrane 1 (TM1) と TM3 を近づけることで、Xkr4 が活性化することを示している (Maruoka et al., Mol Cell 2021; Zhang et al., 2023 Nat Commun)。また、Xkr4 ダイマーに Q332E の点変異が入ったもの (Xkr4 dimer Q332E) も同様に細胞外カルシウムを必要とすることが分かった。研究を進める中で、Xkr4 dimer Q332 が細胞密度の変化によって活性が減少することを見つけた。これは Xkr4 の活性をダウンレギュレーションする未知の制御機構が細胞に存在することを示している。そこで、Xkr4 のダウンレギュレーションを制御する因子群を同定するために、Xkr4 の活性を指標に CRISPR スクリーニングを行ったところ、ミトコンドリア因子を多数同定した。実際に、同定されたミトコンドリア因子群のそれぞれを CRISPR によりノックアウト、もしくは特異的な薬剤で阻害すると細胞膜 Xkr4 の活性が著しく減弱した。次に、Xkr4 活性のダウンレギュレーションの分子機構を調べるために、ミトコンドリア因子の薬剤による阻害下で CRISPR sgRNA ライブラリースクリーニングを行ったところ、エンドサイトーシス関連の因子群を同定した。実際に、Dynamin2 や AP2 などのエンドサイトーシス関連因子をノックアウトすると、Xkr4 が細胞膜に維持され、活性も減弱しないことが分かった。このミトコンドリア因子群による細胞膜タンパク質のエンドサイトーシスの一般性を調べるために、Surface biotin 解析を行ったところ、複数の細胞膜タンパク質を同定した。ミトコンドリア因子群の阻害剤で処理すると、これらの同定された細胞膜タンパク質は Xkr4 と同様にエンドサイトーシスを受けることを見出した。以上の結果は、細胞膜タンパク質の局在がミトコンドリア因子群によって制御されていることを意味しており、細胞膜とミトコンドリアのクロストークを示した点において、意義があると考ええる。今後、ミトコンドリア因子群の阻害により、どのようにエンドサイトーシスが駆動されるのか、さらなる CRISPR スクリーニングで同定すると共に、Xkr4 がどのようにエンドサイトーシスを受けるのかその詳細な分子機構を調べる予定である。