

2024 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

佐藤 明子

広島大学 大学院統合生命科学研究科
教授

トランスゴルジ網/エンドソーム境界領域のダイナミクスと選別輸送

主たる共同研究者:

黒川 量雄 (理化学研究所 光量子工学研究センター 専任研究員)

中野 明彦 (理化学研究所 光量子工学研究センター 特別顧問・副センター長)

松田 厚志 (情報通信研究機構 未来 ICT 研究所 主任研究員)

研究成果の概要

我々は、トランスゴルジ網(TGN)とエンドソームが接着と解離を繰り返しており、この新規な膜間相互作用が積荷タンパク質(積荷)の TGN からの搬出に必要であることを発見した。本研究では、TGN/エンドソームの解離とポストゴルジ輸送の両者を可逆的に阻害できる新たな実験系を用いて、膜間相互作用の実態・積荷選別と TGN からの輸送の分子機構を解明することを目的としている。

佐藤グループでは、光による輸送開始実験法 RudLOV 法を開発し、この手法を用いて dynasore の新たな効果を発見したので、この内容を論文として発表した (1:Tago et al., 2025, EMBO repo)。RudLOV 法では光照射により輸送される積荷の量・領域・タイミングを精密にコントロールできるため、現在汎用されている RUSH 法と比較して、格段に精密な実験が可能であり、輸送研究には便利なツールである。そこで、RudLOV 法を使用するためのプロトコルを Bio-protocol 誌に投稿し (2:Tago et al., Bio-protocol)、現在 revise 中である。さらに、RudLOV 法についての解説文を発表予定である (3:多胡 et al., 2025, 生化学; 4: 多胡 et al., 2025, 月刊『臨床免疫・アレルギー科』)。

また、佐藤チームでは広島大学で電子顕微鏡による 3 次元観察を可能とすることに注力した。広島大学に FIB-SEM、HeliosG4 が導入されたので、本領域の河西チームとの共同研究により、理化学研究所の Helios5 の操作を学び、広島大学 HeliosG4 における観察を行った。現時点ではまだ FIB-SEM としての性能を十分に引き出すことはできていないが、連続切片観察アレイトモグラフィーによる観察は汎用できる状態を作り上げた。輸送過程の GPI-AP の局在を APEX により可視化したうえで、様々な条件でアレイトモグラフィーによる観察を行い、GPI-AP の輸送に数珠状構造・チューブル状構造が関わること、GPI-AP を含むクラスリン被覆小胞が多数見られることを発見した。

黒川・中野グループでは、昨年度より稼働している酵母 RUSH 法について、詳細な条件検討を進めた。とくに、小胞体に繋ぎとめるフックの検討を行い、膜のトポロジーの観点から最適な組み合わせを選ぶ重要性を明らかにした。VPS 経路液胞タンパク質 Cps1 が、小胞体から液胞へ向かう過程で、TGN と MVE の間で両者の接触・解離を介して輸送される様子を捉えた。またこの経路で、液胞タンパク質受容体はレトロマーと共に MVB から TGN へリサイクルされるが、その際に、液胞へ向かう順行性積荷とリサイクルする逆行性積荷が異なるゾーンを形成することを見出した。

松田グループでは、顕微鏡の光学収差補正に関連して、計算による顕微鏡画像の収差計測と補正を継続して行った。分解能限界、Strehl 比、ノイズ耐性など基礎的な情報をシミュレーションの解析により定量化した。通常の顕微鏡と比較して高精度な収差量の計測が必要となる超解像顕微鏡では、再構築過程で用いる変調振幅の計測を利用して正確性とロバスト性を向上させることに成功した。これらの結果をまとめた論文の投稿準備を進めるとともに、この機能を備えたソフトウェアを作成し、配布準備を進めている。

【代表的な原著論文情報】

1) Tago T., Ogawa T., Goto Y., Toyooka K., Tojima T., Nakano A., Satoh T., and Satoh A. K.
RudLOV—a new optically synchronized cargo transport method reveals unexpected effect of

dynasore. EMBO Reports. 26:613-634. 2025.

- 2) Tago T., Satoh T., and Satoh A. K. Studying cargo transport using RudLOV. *In revision* for Bio-protocol.
- 3) 多胡辰哉, 佐藤卓至, 佐藤明子. 新規輸送開始実験法 RudLOV 法の開発と積荷輸送の観察. 生化学 97 巻 4 号 (2025 年 8 月 25 日刊)
- 4) 多胡辰哉, 佐藤卓至, 佐藤明子. 光によって細胞内での蛋白質の輸送をコントロールできる新しい方法 RudLOV 法により明らかとなった dynasore によるシス槽成熟阻害. 月刊『臨床免疫・アレルギー科』84 巻 4 号 (2025 年 10 月刊)