

細胞内現象の時空間ダイナミクス
2020 年度採択研究代表者

2021 年度 年次報告書

東山哲也

東京大学大学院理学系研究科
教授

化学屈性を駆動する高次膜交通ダイナミクス

§ 1. 研究成果の概要

本研究では、花粉管細胞の化学屈性をモデルに、細胞全体で 1 分子・超解像イメージングを達成する新規顕微鏡技術の開発と、多様なカーゴ分子群の同定を主軸に、化学屈性を駆動する膜交通ダイナミクスを解明する。花粉管は直径が 5~10 μm 程度の管状のシングルセルである。細胞先端での膜交通が、驚くべき精度での伸長方向の制御や、安定した伸長維持を担う。本年度、4 グループ(東山 G、植村 G、海老根 G、池田 G)で連携して研究を進め、植物系の 3G が花粉管の実験を独立に行えるようになった。植村 G は、植物をモデルに、エキソサイトーシス経路における独立型 TGN の構造と機能、ゾーンの存在を明らかにしている。今年度は、TGN/EE 局在 SNARE SYP61 が、シロイヌナズナの C/N 栄養バランス応答を制御することも示した(Plant Cell, 2022)。花粉管における超解像イメージングに着手し、超解像での膜交通の様子が明らかになり始めた。海老根 G は、異なる機能を担う受容体を、異なるアダプタータンパク質を使ったクラスリン依存的エンドサイトーシス経路で花粉管先端へとリサイクリングする仕組みの解析を進めた。東山 G は、化学屈性を制御する未知の受容体およびリガンドの同定と並行して、池田 G と花粉管における超解像イメージングの条件検討を進めた。植村 G および海老根 G と膜交通分子の解析も進めた。植物科学におけるマイクロ流体デバイスの研究状況を概説するとともに(Plant Cell Physiol., 2021)、1 分子化学屈性アッセイに向けたインジェクターを開発した(RSC Adv., 2021)。胚珠への花粉管誘引を化学染色により定量する方法も報告した(Int. J. Mol. Sci., 2022)。さらに池田 G により、細胞内の全小胞のリアルタイム可視化を可能とする多色レーザー顕微鏡の開発が進められた。

§ 2. 研究実施体制

(1) 東山グループ(東京大学)

- ① 研究代表者: 東山 哲也 (東京大学大学院理学系研究科 教授)
- ② 研究項目
 - ・既知分子を用いた解析(既知カーゴ分子の解析)
 - ・未知分子の同定と解析(未知カーゴ分子の同定を解析)
 - ・顕微鏡技術の開発(花粉管細胞の1分子・超解像イメージング)
 - ・膜交通ダイナミクスの解析(花粉管誘引における膜交通ダイナミクスの解析)

(2) 植村グループ(お茶の女子大学)

- ① 主たる共同研究者: 植村 知博 (お茶の女子大学基幹研究院 准教授)
- ② 研究項目
 - ・既知分子を用いた解析(カーゴ分子ごとの膜交通分子解析)
 - ・未知分子の同定と解析(カーゴ分子ごとの膜交通分子解析)
 - ・膜交通ダイナミクスの解析(エキソサイトーシスから探る膜交通)

(3) 海老根グループ(基礎生物学研究所)

- ① 主たる共同研究者: 海老根 一生 (基礎生物学研究所細胞動態研究部門 助教)
- ② 研究項目
 - ・既知分子を用いた解析(カーゴ分子ごとの膜交通分子解析)
 - ・未知分子の同定と解析(カーゴ分子ごとの膜交通分子解析)
 - ・膜交通ダイナミクスの解析(エキソサイトーシスから探る膜交通)

(4) 池田グループ(東京大学)

- ① 主たる共同研究者: 池田 一穂 (東京大学大学院医学系研究科 講師)
- ② 研究項目
 - ・顕微鏡技術の開発(花粉管細胞の1分子・超解像イメージング)
 - ・膜交通ダイナミクスの解析(花粉管誘引における膜交通ダイナミクスの解析)

(5) 東山グループ(名古屋大学)

- ① 主たる共同研究者: 東山 哲也 (名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所 教授)
- ② 研究項目
 - ・既知分子を用いた解析(既知カーゴ分子の解析)
 - ・未知分子の同定と解析(未知カーゴ分子の同定を解析)
 - ・顕微鏡技術の開発(花粉管細胞の1分子・超解像イメージング)
 - ・膜交通ダイナミクスの解析(花粉管誘引における膜交通ダイナミクスの解析)

【代表的な原著論文情報】

- 1) Hasegawa Y., Huarancca Reyes T., Uemura T., Baral A., Fujimaki A., Luo Y., Morita Y., Saeki Y., Maekawa S., Yasuda S., Mukuta K., Fukao Y., Tanaka K., Nakano A., Takagi J., Bhalerao R.P., Yamaguchi J., Sato T. (2022) The TGN/EE SNARE protein SYP61 and the ubiquitin ligase ATL31 cooperatively regulate plant responses to carbon/nitrogen conditions in Arabidopsis. *Plant Cell*. 34, 1354–1374.
- 2) Yanagisawa N., Kozgunova E., Grossmann G., Geitmann A., Higashiyama T. (2021) Microfluidics-based Bioassays and Imaging of Plant Cells, *Plant Cell Physiol.* 62, 1239–1250.
- 3) Yanagisawa N., Kozgunova E., Higashiyama T. (2021) Pulsatile reverse flow actuated microfluidic injector: toward the application for single-molecule chemotropism assay. *RSC Adv.* 11, 27011–27018.
- 4) Nagae T.T., Takeuchi H., Higashiyama T. (2022) Quantification of Species-Preferential Micropylar Chemoattraction in Arabidopsis by Fluorescein Diacetate Staining of Pollen Tubes. *Int J Mol Sci.* 23, 2722.