

細胞内現象の時空間ダイナミクス
2021 年度採択研究代表者

2021 年度 年次報告書

加藤晃一

自然科学研究機構 生命創成探究センター
教授

ゴルジ体の動態解明に基づく糖鎖修飾の制御

§ 1. 研究成果の概要

本研究は糖鎖修飾の舞台としてのゴルジ体に着目し、その微細構造の時空間ダイナミクスと糖タンパク質の輸送経路を精密探査するものである。さらに、ゴルジ体の形成とカーゴ分子の選別輸送の分子機構を解明することにより、分泌経路の設計原理を理解し、その過程で得られた知見を基にタンパク質の糖鎖修飾を制御することを目指している。

本年度は、微細形態と糖転移酵素の局在に基づくゴルジ体の構造ダイナミクスを解析する基盤を整えることができた。すなわち、連続切片を用いた走査電子顕微鏡技術により、培養動物細胞を対象としてゴルジ体の3次元像の構築に成功した。さらに超解像顕微鏡観察により、トランスゴルジ槽に配置する数種類の糖転移酵素が異なる局在パターンを示すことを明らかにした。さらには、バイオ実験自動化システム「まほろ」からマイクロプレートを顕微鏡に受け渡す補助ロボット部分の構築を行った。これにより、「まほろ」が調製した免疫染色試料を顕微鏡で観察するための自動化の基盤を構築することができた。

一方、カーゴ分子および糖転移酵素にビオチン化酵素を融合させて哺乳動物細胞に発現させ、分泌経路における近接依存性標識を実施した。これにより、分子暗号を組み込んで分泌ルートを制御したカーゴ分子と糖転移酵素のいずれの近傍にも存在し得る分子を同定し、本タンパク質が糖転移酵素と複合体を形成することを見出した。

このように、本年度は、今後の研究を展開するにあたり、必要な技術基盤を整備するとともに、これを用いて重要な新知見を得ることに成功した。

§ 2. 研究実施体制

(1) 加藤グループ

- ① 研究代表者: 加藤晃一 (自然科学研究機構・生命創成探究センター・教授)
- ② 研究項目
 1. 微細形態と糖転移酵素の局在に基づくゴルジ体の構造ダイナミクスの解析
 2. カーゴ分子および糖転移酵素の細胞内移動経路の実態解明
 3. 分泌経路のプログラムの解読とその改変による糖鎖修飾の制御

(2) 戸島グループ

- ① 主たる共同研究者: 戸島 拓郎 (理化学研究所・光量子工学研究センター・上級研究員)
- ② 研究項目
 2. カーゴ分子および糖転移酵素の細胞内移動経路の実態解明

(3) 甲賀グループ

- ① 主たる共同研究者: 甲賀 大輔 (旭川医科大学・医学部・准教授)
- ② 研究項目
 1. 微細形態と糖転移酵素の局在に基づくゴルジ体の構造ダイナミクスの解析
 2. カーゴ分子および糖転移酵素の細胞内移動経路の実態解明

(4) 光山グループ

- ① 主たる共同研究者: 光山 統泰 (産業技術総合研究所・人工知能研究センター・研究チーム長)
- ② 研究項目
 1. 微細形態と糖転移酵素の局在に基づくゴルジ体の構造ダイナミクスの解析
 2. カーゴ分子および糖転移酵素の細胞内移動経路の実態解明
 3. 分泌経路のプログラムの解読とその改変による糖鎖修飾の制御

【代表的な原著論文情報】

- 1) “An embeddable molecular code for Lewis X modification through interaction with fucosyltransferase 9” Saito, T., Yagi, H., Kuo, C-H., Khoo, K-H., and Kato, K. *Research Square* DOI: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1168711/v1> (2022).
- 2) “Super-resolution Live Imaging of Cargo Traffic through the Golgi Apparatus in Mammalian Cells”, Tojima, T., Miyashiro, D., Kosugi, Y., and Nakano, A. *Methods Mol. Biol.* in press (2022).