

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

2022 年度
年次報告書

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)

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 TGN とエンドソームの解離とポストゴルジ輸送が阻害された状況の HeLa 細胞を超解像ライブイメージングにより観察し、積荷はゴルジ体のトランス槽を超えた後、ゴルジ体と RE の間に蓄積すること、また、2 種類の積荷を同時に輸送開始したときには 2 種類の積荷が分離して蓄積することを見出した。3D-EM 観察では、ゴルジ体のトランス側に多数の小胞や囊が蓄積し、一部は半融合状態で接着していること、更に半融合状態の片側にのみ積荷が存在する場面があることを突き止めた。

黒川グループでは主に酵母 RUSH 法の開発を行なった。小胞体からゴルジ槽/TGN を経由し液胞へ輸送される各種液胞積荷レポーター、レポーターを小胞体膜に繋ぎ止めるフックを構築した。RUSH 法では、ビオチン添加によりレポーターとフックとの結合を同調的に乖離させるため、輸送開始前はビオチン無添加培地での飼育が望ましい。しかし出芽酵母の生育にはビオチンが必須であるため、フックとレポーターの結合を維持可能な至適ビオチン濃度等、酵母培養条件の検討を行った。また、研究計画書に記載した酵母変異体作成はほぼ終了した。

松田グループでは光軸方向の分解能を 4 倍にしながらか高速イメージングできる新しい SIM 顕微鏡 (Z-SIM) の開発に着手した。再構築シミュレーションプログラムの開発による理論の確認と、この方法を用いた顕微鏡ハードウェアの設計を行い、今後の理論実証の基盤作りを着実に進めた。

【代表的な原著論文情報】

- 1) Yamashita H.#, Ochi Y.#, Yamada Y., Sasaki S., Tago T., Satoh T. and **Satoh A. K.** (#: co-first Author) Function of neuronal Synaptobrevin in the post-Golgi transport of rhodopsin in *Drosophila* photoreceptors. *Journal of Cell Science*, 135: jcs260196, 2022.
- 2) Kakimoto-Takeda Y, Kojima R, Shiino H, Shinmyo M, **Kurokawa K**, Nakano A, Endo T, Tamura Y. Dissociation of ERMES clusters plays a key role in attenuating the endoplasmic reticulum stress. *iScience*. Vol 25 Issue 11, 18 Nov. DOI: 10.1016/j.isci.2022.105362.
- 3) 花岡和樹, **黒川量雄**, 船戸耕一(2023)「みにれびゅう GPI アンカー型タンパク質の選別輸送の品質管理」生化学第 95 巻第 2 号. 228 -233 頁.