

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

白水 美香子

理化学研究所 生命機能科学研究センター  
チームリーダー

クライオ電顕による DOCK シグナルソームの動的構造の解明

主たる共同研究者:

細谷 孝充 (東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 教授)

山内 淳司 (東京薬科大学 生命科学部 教授)

## 研究成果の概要

細胞形態変化を司る Rho ファミリー低分子量 G タンパク質の活性化因子 DOCK (Dedicator of cytokinesis) は 11 のファミリーメンバーからなり、それぞれが神経発生や免疫など様々なプロセスで重要な役割を果たしている。DOCK ファミリーの約半数は、ELMO(Engulfment of cell motility)と複合体を形成し、細胞質から細胞膜へ局在を変化させて G タンパク質 Rac を活性化するが、その実態は捉えられていない。そこで、細胞環境に近い *in vitro* 再構成系で様々な活性化状態での高分解能構造を取得するとともに、クライオ電子線トモグラフィー法(cryo-ET)により細胞内分子の位置情報を取得し、高精度の細胞内構造情報を取得するための化合物を創成して細胞内環境での動的構造解析を行うことで、シグナロソーム形成のメカニズム、情報伝達の実態、細胞形態変化への関与を分子レベルで解明することを目的としている。

本年度は、ELMO-DOCK-Rac の上流因子である RhoG など各因子の Rac シグナルにおける機能を理解するために、DOCK 複合体の電頭構造に基づいた ELMO や RhoG の変異体の調製と機能解析を行った。また、クライオ電頭構造から示唆される DOCK の機能制御に重要な領域について変異体を作成し、細胞形態変化への影響を検討した。さらに、シグナロソーム形成に特に重要な領域がどのように細胞の生理機能に影響を及ぼすかを明らかにするために、ノックダウン実験に着手した。また、cryo-ET 測定において細胞内での位置情報を得るための標的タンパク質の重原子での効率的な標識を可能とするために、親水性の高い機能性環状アルキンの合成法の開発に着手し、アルキン-コバルト錯体の脱コバルト化法を鍵反応とするジベンゾアザシクロオクチン(DIBAC)誘導体の高効率合成法の開発に成功した。

### 【代表的な原著論文情報】

- 1) "Structural basis for the dual GTPase specificity of the DOCK10 guanine nucleotide exchange factor" Kukimoto-Niino M, Ihara K, Mishima-Tsumagari C, Inoue M, Fukui Y, Yokoyama S, and Shirouzu M. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 653: 12-20 (2023).
- 2) "Targeting Ras-binding domain of ELMO1 by computational nanobody design" Tam C, Kukimoto-Niino M, Miyata-Yabuki Y, Tsuda K, Mishima-Tsumagari C, Ihara K, Inoue M, Yonemochi M, Hanada K, Matsumoto T, Shirouzu M, and Zhang K Y J. *Communications Biology* 6(1): 284 (2023).
- 3) "Synthesis of Functionalized Dibenzoazacyclooctynes by a Decomplexation Method for Dibenzo-Fused Cyclooctyne-Cobalt Complexes" Sakata Y, Nabekura R, Hazama Y, Hanya M, Nishiyama T, Kii I, Hosoya T. *Organic Letters* 25(7): 1051-1055 (2023).