

2023 年度年次報告書
細胞の動的・高次構造体
2021 年度採択研究代表者

中村 秀樹

京都大学 白眉センター・大学院工学研究科
特定准教授

解糖系高次構造体の時空間操作技術によるグルコース代謝制御の解明

研究成果の概要

生きた細胞内の細胞質の任意の箇所で細胞の内在性アクチンの重合を操作することで、重合アクチンネットワークの成長により生じる物理的力を、細胞内の任意の標的構造体に作用させる技術 **ActuAktor** を開発し、論文として発表した(論文 1)。**ActuAktor** は、細胞外からの小分子化合物あるいは光刺激に応じて、ミトコンドリア・核・ゴルジ体・ストレス顆粒などの細胞内構造体を迅速に変形・運動させた。この結果は、**ActuAktor** がデザイン通り物理的力を発生させたことを示唆している。興味深いのは、近年の生物学で注目を集めている、相転移・相分離現象を介してダイナミックに集合・離散する細胞内構造体の代表例、ストレス顆粒を刺激依存的に離散させることに成功したという点である。このような相分離で形成される凝縮体の離散を操作する技術はまだ報告例が少なく、技術的な新規性が高い。そこで **ActuAktor** を、細胞をクエン酸刺激した際に形成される解糖系酵素 PFKL の凝縮体に適用する予備的実験を行ったが、残念ながら凝縮体の離散は起こらなかった。

前述の PFKL 凝縮体は、先行研究においてクエン酸刺激の他、より生理的に起こりやすいと考えられる低酸素環境への応答の過程で形成されることが報告されていた。そこで、蛍光タンパク質で標識した PFKL を用いて哺乳動物株化細胞内での凝縮体形成を蛍光イメージングで解析した。顕微鏡下で低酸素状態でのインキュベーション可能なセットアップを構築し、通常酸素濃度から徐々に酸素濃度を下げながら PFKL の細胞内分布を観察した。しかし、報告されているような相分離による凝縮は確認できなかった。そこで今後の研究の方向性として、低酸素状態における解糖系酵素の近接プロテオーム変化の網羅的同定に重点をおくこととした。並行して、近接プロテオームラベルの新規技術開発の論文を発表した(論文 2)。

【代表的な原著論文情報】

- 1) Nakamura, H.†, Rho, E., Lee, C.T., Itoh, K., Deng, D., Watanabe, S., Razavi, S., Matsubayashi, H.T., Zhu, C., Jung, E., Rangamani, P., Watanabe, S., Inoue, T.†(†co-correspondence), **ActuAktor**, a Listeria-inspired molecular tool for physical manipulation of intracellular organizations through de novo actin polymerization, *Cell Reports*, 42(10), 113089, (2023).
- 2) Zhu, H., Oh, J.H., Matsuda, Y., Mino, T., Ishikawa, M., Nakamura, H., Tsujikawa, M., Nonaka, H., Hamachi, I., Tyrosinase-based Proximity Labeling in Living Cells and In Vivo, *J. Am. Chem. Soc.*, 146(11), 7515-7523, (2024).