

細胞の動的な高次構造体
2020年度採択研究者

2020年度 年次報告書

吉田 大和

東京大学大学院理学系研究科
准教授

オルガネラ分裂リングの分子動作機序の解明

§ 1. 研究成果の概要

初年度(2020年度)は、当初計画したスケジュールに従い、Venus-fusion Dnm2 および Venus-fusion PDR1 の形質転換株を作成し、分子動作機構の解析に着手した。これまでの段階で、それぞれの形質転換株が正常に発現し、機能していることを確認できた。また高感度顕微鏡観察を通じた Dnm2 および PDR1 のタンパク質分子の挙動と局在変動などを解析した結果、両タンパク質は同じく葉緑体分裂装置の構成タンパク質であるにもかかわらず、挙動には大きな違いがあることが分かった。特に GTPase タンパク質でもある Dnm2 は葉緑体分裂の初期から終期にかけてほとんど変わらないタンパク質コピー数が局在していたが、葉緑体分裂リング合成タンパク質である PDR1 は、大きく変動している可能性が示唆された。次年度においては、これらターゲットとするタンパク質に変異導入した株を作成し、詳細な分子動作機構の解析に着手する。また、シズンにおける世界初の CRISPR ゲノム編集技術を確認することに成功し、シズン・カッターと命名した。本技術では、Venus 融合核局在 Cas9 を恒常発現させ、細胞核を可視化した新規細胞株 YMT1 を構築した。ターゲットとする遺伝子を編集するための gRNA の導入に伴うレポーターとして、ミトコンドリア局在 mScarlet 蛍光タンパク質、さらにペルオキシソーム局在 mCerulean3 を組み込むことで、ミトコンドリアとペルオキシソームの可視化も両立している。同技術によって、ターゲット遺伝子を破壊した際に、細胞核、ミトコンドリア、葉緑体、ペルオキシソームという主要なオルガネラの形態・分裂異常を即座に同定することが可能となった。現在、同技術を纏めた論文を準備しており、間もなく投稿予定。今後は、同技術を本研究プロジェクトへ活用し、一層の進展を図る。

【代表的な原著論文情報】

- 1) “CZON-cutter: a CRISPR-Cas9 system with multiplexed organelle imaging in a simple unicellular alga”, bioRxiv, <https://doi.org/10.1101/2021.05.23.445365>