

細胞の動的・高次構造体
2020 年度採択研究者

2021 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

本年度(2021 年度)は、研究計画に従い Venus-fusion DNM2 株を用いた葉緑体分裂リングの動作機構解析を中心に解析を進めた。

顕微鏡観察下で葉緑体分裂過程のタイムラプス蛍光観察が可能となり、葉緑体分裂リングのダイナミクスを解析することが可能となった。環境温度に依存した葉緑体分裂速度の変化が観察された。この結果は、葉緑体分裂リングの動作はタンパク質の酵素的な働きを基盤としたメカニズムによることが明らかとなった。また同解析によって、葉緑体分裂リングの活性化エネルギーを算出することにも成功した。野生型 DNM2 を用いた解析に加えて、複数の変異型 DNM2 の機能解析も実施した。様々な保存アミノ酸部位に変異を導入した結果、特に GTP 加水分解ドメインへの変異導入は確実に致死となることがわかった。このことから、葉緑体分裂リングの動作において、GTP の加水分解は決定的なプロセスであることが示唆された。また、GTPase ドメイン以外の領域へ変異導入した株を用いてタイムラプス解析を行ったところ、いずれの変異によっても葉緑体分裂速度の顕著な低下が確認されている。このことから、DNM2 の葉緑体分裂リングにおける機能は、葉緑体分裂リングの収縮動作に関するものであることが確実となった。さらに本年度は、細胞から単離した葉緑体分裂リングを用いた in vitro リング収縮実験系の構築を試みた。実験条件検討を進める中で、極めて遅い収縮速度ではあったが単離葉緑体分裂リングが収縮する様子を観察することに成功した。現在観察されているリングの収縮速度は実験条件の最適化によって向上する可能性も高いため、引き続き実験条件の検討および解析を継続して行う。

これらの葉緑体分裂リングの動作解析を補助する技術開発も順調に進展しており、シゾンにおける世界初のゲノム編集技術の確立に成功し、報告した(Tanaka et al. 2021 *J. Cell Sci.*)。今後は、同技術も活用し、より一層の研究進展を図る。

【代表的な原著論文情報】

- 1) Tanaka, N., Y. Mogi, T. Fujiwara, K. Yabe, Y. Toyama, T. Higashiyama, and Y. Yoshida. 2021. CZON-cutter - a CRISPR-Cas9 system for multiplexed organelle imaging in a simple unicellular alga. *J. Cell Sci.* 134. doi:10.1242/jcs.258948.