

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
------------------

西村 多喜

東京大学大学院医学系研究科／科学技術振興機構  
特任研究員／さきがけ研究者

動的なオルガネラコンタクトネットワーク制御機構の解明

## § 1. 研究成果の概要

本さがけ研究では、細胞内におけるオルガネラネットワーク形成状態を解析する際に有用な可視化ツールの開発に取り組んでいる。動的なオルガネラコンタクトサイト可視化プローブの開発に関して、まず今年度は可逆的な split 蛍光プローブのリガンド調製と小胞体-形質膜 (ER-PM) split 蛍光プローブの作成を行った。その結果、野生型細胞では ER-PM が観察される領域に split プローブの蛍光シグナルが観察され、ER-PM コンタクト形成が出来ない  $\Delta$ tether 酵母変異体ではそのシグナルが著しく減弱しており、ER-PM コンタクトサイトを検出していることが確認出来た。脂質ナノプローブ on demand 作製法の確立に関しては、まず実験系の最適化に取り組んだ。リポソーム結合のスクリーニング実験を行うのに最適な条件を見出し、ホスファチジルセリン PS 結合プローブ LactC2 と PS 含有リポソームの特異的な結合をハイスループットで解析する実験系を新しく構築した。このアッセイ系を用いて、ペプチドライブラリーから標的脂質を含むリポソームと特異的に結合するペプチド単離スクリーニングを実施した。これまでに、酸性リン脂質と結合する 22 クロンの単離に成功した。さらにアミノ酸配列のパターン解析から、これらのペプチドには疎水性のアミノ酸と塩基性のアミノ酸を豊富に含むループ状構造が存在することが分かってきた。あるクローンは細胞内でも形質膜上のホスファチジルイノシトール 4,5-二リン酸 PI4,5P<sub>2</sub> を感知していることが確認出来ており、新規脂質プローブ作成に向けた基本的な技術基盤が概ね整ったものと考えられる。