

細胞の動的・高次構造体
2021 年度採択研究者

2021 年度 年次報告書

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

§ 1. 研究成果の概要

酸素を消費しないグルコース代謝経路である解糖系の酵素であり、解糖系の律速段階を触媒すると言われる PFKL に注目して実験を行った。まず蛍光タンパク質標識した PFKL を細胞内に強制発現し、クエン酸を細胞外溶液に添加したところ、PFKL が集合し、1-10 分の時間スケールで液滴様の構造体を形成することを確認した。複数の細胞種や刺激強度で検討を行い、再現性良く構造体形成が見られる実験条件を決定した。この構造体形成のダイナミクスは細胞ごとのばらつきが大きく、今後の検討では安定発現株の樹立や内在性タンパク質の標識などを用いてデータの精度を上げる必要がある。

生きた細胞内の非膜オルガネラを小分子化合物や光刺激で離散させる技術 ActuAtoR について、非膜オルガネラの典型例であるストレス顆粒を刺激依存的に離散させることを論文にまとめて投稿した。並行して、強制発現した PFKL の細胞内局在を小分子化合物ラパマイシン刺激によって操作する実験を行い、細胞膜上あるいはミトコンドリア上に刺激依存的に集積させることに成功した。

以降の研究において、時空間的に自在にパターン化した光刺激を用いて生きた細胞内のタンパク質ダイナミクスを操作する系が必要となることから、倒立蛍光顕微鏡をベースとした光操作光学系の構築に着手した。本年度はまず光刺激装置以外の倒立蛍光顕微鏡部分のセットアップを完了した。

PFKL が形成する構造体の構成要素を網羅的に解析するために、近接ラベリング法を用いた構造体構成要素のラベル化について予備的検討を行った。PFKL にビオチン化酵素 TurboID と蛍光タンパク質を融合し、ビオチンを加えてラベル化を行ったところ、一部の細胞で PFKL の構造体と共局在するビオチン化シグナルが観察された。この結果は TurboID を用いた近接ラベリングが機能していることを示唆している。