

領域略称名：オルガネラゾーン  
領域番号：3904

令和4年度科学研究費助成事業  
「新学術領域研究（研究領域提案型）」  
に係る研究成果報告書（研究領域）兼  
事後評価報告書

「細胞機能を司るオルガネラ・ゾーンの解読」

領域設定期間

平成29年度～令和3年度

令和4年6月

領域代表者 東京医科歯科大学・難治疾患研究所・教授・清水 重臣

# 目 次

## **研究組織**

- |   |                |   |
|---|----------------|---|
| 1 | 総括班・総括班以外の計画研究 | X |
| 2 | 公募研究           | X |

## **研究領域全体に係る事項**

- |    |                                   |   |
|----|-----------------------------------|---|
| 3  | 交付決定額                             | X |
| 4  | 研究領域の目的及び概要                       | X |
| 5  | 審査結果の所見及び中間評価結果の所見で指摘を受けた事項への対応状況 | X |
| 6  | 研究目的の達成度及び主な成果                    | X |
| 7  | 研究発表の状況                           | X |
| 8  | 研究組織の連携体制                         | X |
| 9  | 研究費の使用状況                          | X |
| 10 | 当該学問分野及び関連学問分野への貢献の状況             | X |
| 11 | 若手研究者の育成に関する取組実績                  | X |
| 12 | 総括班評価者による評価                       | X |

---

### 【以下、非公開部分】

- |    |       |   |
|----|-------|---|
| 13 | 参考データ | X |
|----|-------|---|

**研究組織**

(令和4年3月末現在。ただし完了した研究課題は完了時現在、補助事業廃止の研究課題は廃止時現在。)

**1 総括班・総括班以外の計画研究**

| 研究項目[1]                              | 課題番号<br>研究課題名                                    | 研究期間                 | 研究代表者<br>氏名 | 所属研究機関・部局・職                       | 人数<br>[2] |
|--------------------------------------|--|----------------------|-------------|-----------------------------------|-----------|
| X00<br>総括                            | 17H06413<br>細胞機能を司るオルガネラ・ゾーンの解読                  | 平成29年度<br>～<br>令和3年度 | 清水 重臣       | 東京医科歯科大学・難治疾患研究所<br>・教授           | 17        |
| A01<br>計画                            | 17H06414<br>ミトコンドリア、ゴルジ体に関連する応答ゾーン、連携ゾーン解析       | 平成29年度<br>～<br>令和3年度 | 清水 重臣       | 東京医科歯科大学・難治疾患研究所<br>・教授           | 5         |
| A01<br>計画                            | 17H06415<br>生体防御応答を制御する新規オルガネラ・ゾーンの同定            | 平成29年度<br>～<br>令和3年度 | 齊藤 達哉       | 大阪大学・大学院薬学研究科・教授                  | 4         |
| A01<br>計画                            | 17H06416<br>DNA品質管理を担う核-小胞体連携ゾーンの解析              | 平成29年度<br>～<br>令和3年度 | 今泉 和則       | 広島大学・医系科学研究科(医)<br>・教授            | 4         |
| A01<br>計画                            | 17H06417<br>小胞体膜連携ゾーンを介した脂質輸送                    | 平成29年度<br>～<br>令和3年度 | 花田 賢太郎      | 国立感染症研究所・細胞化学部<br>・部長             | 3         |
| A01<br>計画                            | 17H06418<br>膜脂質を基軸としたオルガネラ連携ゾーンの解明               | 平成29年度<br>～<br>令和3年度 | 新井 洋由       | 東京大学・大学院医学系研究科(医学部)・客員研究員         | 2         |
| A02<br>計画                            | 17H06419<br>小胞体品質管理に関わる選別輸送ゾーンの解明                | 平成29年度<br>～<br>令和3年度 | 森 和俊        | 京都大学・理学研究科・教授                     | 5         |
| A02<br>計画                            | 17H06420<br>ER exit siteでのGPIアンカー蛋白質選別輸送ゾーンの解析   | 平成29年度<br>～<br>令和3年度 | 中野 明彦       | 国立研究開発法人理化学研究所・光量子工学研究センター・副センター長 | 2         |
| A02<br>計画                            | 17H06421<br>糖鎖およびリン酸修飾の基盤となる選別輸送ゾーンの分子機構と生理機能の解析 | 平成29年度<br>～<br>令和3年度 | 後藤 聡        | 立教大学・理学部・教授                       | 3         |
| A02<br>計画                            | 17H06422<br>上皮細胞の極性輸送における細胞小器官内選別輸送ゾーンの有無とその意義   | 平成29年度<br>～<br>令和3年度 | 原田 彰宏       | 大阪大学・医学系研究科・教授                    | 3         |
| <b>総括班・総括班以外の計画研究 計 10 件 (廃止を含む)</b> |  |                      |             |                                   |           |

[1] 総：総括班、国：国際活動支援班、計：総括班以外の計画研究、公：公募研究

[2] 研究代表者及び研究分担者の人数（辞退又は削除した者を除く。）

## 2 公募研究

| 研究項目[1]   | 課題番号<br>研究課題名  | 研究期間                 | 研究代表者<br>氏名 | 所属研究機関・部局・職                | 人数<br>[2] |
|-----------|--|----------------------|-------------|----------------------------|-----------|
| A01<br>公募 | 18H04850<br>エンドゾームとミトコンドリアの<br>連携ゾーンの解析                      | 平成30年度<br>～<br>令和元年度 | 大場 雄介       | 北海道大学・医学研究院・教授             | 1         |
| A01<br>公募 | 18H04852<br>自己分解を統制する葉緑体応答ゾ<br>ーンとその破綻が生む葉緑体-核<br>連携ゾーンの实体解明 | 平成30年度<br>～<br>令和元年度 | 泉 正範        | 東北大学・学際科学フロン<br>ティア研究所・助教  | 1         |
| A01<br>公募 | 18H04853<br>オルガネラ間の連携を介したオー<br>トファゴソーム形成機構の解析                | 平成30年度<br>～<br>令和元年度 | 鈴木 邦律       | 東京大学・大学院新領域創<br>成科学研究科・准教授 | 1         |
| A01<br>公募 | 18H04854<br>オルガネラの形態を人工的に操作<br>する技術の開発とその応用                  | 平成30年度<br>～<br>令和元年度 | 宮本 崇史       | 筑波大学・医学医療系・助教              | 1         |
| A01<br>公募 | 18H04856<br>核酸認識 TLR によるエンドソ<br>ーム・ライソソームの応答ゾーンの<br>解明       | 平成30年度<br>～<br>令和元年度 | 齋藤 伸一郎      | 東京大学・医科学研究所・准<br>教授        | 1         |
| A01<br>公募 | 18H04858<br>ミトコンドリア分解ゾーンの形成<br>機構と分解基質の解明                    | 平成30年度<br>～<br>令和元年度 | 神吉 智丈       | 新潟大学・医歯学系・教授               | 1         |
| A01<br>公募 | 18H04859<br>小胞体-細胞膜接触ゾーンの形成<br>機構と脂質制御を介した生理機能<br>の解明        | 平成30年度<br>～<br>令和元年度 | 中津 史        | 新潟大学・医歯学系・准教授              | 1         |
| A01<br>公募 | 18H04860<br>小胞体・ミトコンドリア関連に着<br>目した運動神経変性機序の解明                | 平成30年度<br>～<br>令和元年度 | 山中 宏二       | 名古屋大学・環境医学研究<br>所・教授       | 1         |
| A01<br>公募 | 18H04861<br>小胞体-ミトコンドリア連携ゾ<br>ーンにおける II 型膜蛋白質 CKAP4<br>の機能解析 | 平成30年度<br>～<br>令和元年度 | 菊池 章        | 大阪大学・医学系研究科・教<br>授         | 1         |
| A01<br>公募 | 18H04863<br>ミトコンドリアにおける自然免疫<br>応答ゾーンの解析                      | 平成30年度<br>～<br>令和元年度 | 小柴 琢己       | 福岡大学理学部化学科・教<br>授          | 1         |
| A01<br>公募 | 18H04865<br>人工リンカー蛋白質を利用した小<br>胞体-ミトコンドリア繫留分子の<br>同定と機能解析    | 平成30年度<br>～<br>令和元年度 | 山本 真寿       | 熊本大学・大学院生命科学<br>研究部(医)・助教  | 1         |

|           |   |                         |       |   |   |
|-----------|---|-------------------------|-------|---|---|
| A01<br>公募 | 18H04869<br>MITOL による MAM 形成の制御<br>機構と生理機能              | 平成 30 年度<br>～<br>令和元年度  | 柳 茂   | 東京薬科大学・生命科学部・<br>教授                       | 1 |
| A01<br>公募 | 18H04870<br>核輸送因子局在化ゾーンによる細<br>胞核内外オルガネラ連携              | 平成 30 年度<br>～<br>令和元年度  | 安原 徳子 | 日本大学・文理学部・准教授                             | 1 |
| A01<br>公募 | 18H04871<br>レドックスゾーンで切り拓く小胞<br>体恒常性維持機構                 | 平成 30 年度<br>～<br>令和元年度  | 潮田 亮  | 京都産業大学・生命科学部・<br>准教授                      | 1 |
| A02<br>公募 | 18H04851<br>キネシン-1 カーゴのオルガネラゾ<br>ーン選択的な形成と輸送分子機構<br>の解明 | 平成 30 年度<br>～<br>令和元年度  | 鈴木 利治 | 北海道大学・薬学研究院・教<br>授                        | 1 |
| A02<br>公募 | 18H04857<br>植物 TGN におけるポストゴルジ<br>輸送選別ゾーンの構築機構と動態        | 平成 30 年度<br>～<br>令和元年度  | 植村 知博 | お茶の水女子大学・理系女<br>性教育開発共同機構・准教<br>授         | 1 |
| A02<br>公募 | 18H04868<br>糖鎖修飾によるインテグリンの選<br>別輸送ゾーンの制御とその分子機<br>序の解明  | 平成 30 年度<br>～<br>令和元年度  | 顧 建国  | 東北医科薬科大学・薬学部・<br>教授                       | 1 |
| A02<br>公募 | 18H04873<br>S-アシル化修飾ゾーンとシナプス<br>機能                      | 平成 30 年度<br>～<br>令和元年度  | 深田 正紀 | 生理学研究所・分子細胞生<br>理研究領域・教授                  | 1 |
| A02<br>公募 | 18H04874<br>オルガネラゾーン形成と成熟の数<br>理モデリング                   | 平成 30 年度<br>～<br>令和元年度  | 立川 正志 | 京都大学・ウイルス・再生医<br>科学研究所・准教授                | 1 |
| A01<br>公  | 20H04899<br>核膜間交流ゾーンにおける分子基<br>盤と生物学的意義の解明              | 令和 2 年度<br>～<br>令和 3 年度 | 加藤 哲久 | 東京大学・医科学研究所・准<br>教授                       | 1 |
| A01<br>公  | 20H04910<br>炎症増幅に機能するミトコンドリ<br>ア中心体間の連携ゾーン形成機<br>序の解明   | 令和 2 年度<br>～<br>令和 3 年度 | 原 英樹  | 慶應義塾大学・医学部(信濃<br>町)・特任准教授                 | 1 |
| A01<br>公  | 膜構造制御によるオルガネラ連携<br>ゾーン形成と神経軸索変性症との<br>関連                | 令和 2 年度<br>～<br>令和 3 年度 | 白根 道子 | 名古屋市立大学・医薬学総<br>合研究院(薬学)・教授               | 1 |
| A01<br>公  | 20H04916<br>葉緑体を基軸とするオルガネラ・<br>ゾーンの形成因子と機能実証            | 令和 2 年度<br>～<br>令和 3 年度 | 泉 正範  | 国立研究開発法人理化学研<br>究所・環境資源科学研究セ<br>ンター・上級研究員 | 1 |
| A01<br>公  | 20H04905<br>核小体オルガネラゾーンにおける<br>ストレス制御と癌の発症進展機構          | 令和 2 年度<br>～<br>令和 3 年度 | 鈴木 聡  | 神戸大学, 医学研究科, 教<br>授                       | 1 |

|          |  |                         |        |                           |   |
|----------|--|-------------------------|--------|---------------------------|---|
| A01<br>公 | 20H04900<br>核酸認識 TLR によるエンドソーム・ライソソームの応答ゾーンの解明       | 令和 2 年度<br>～<br>令和 3 年度 | 齋藤 伸一郎 | 東京大学・医科学研究所・准教授           | 1 |
| A01<br>公 | 20H04898<br>小胞体ーミトコンドリア接触によるミトコンドリア内膜構造及び機能の制御       | 令和 2 年度<br>～<br>令和 3 年度 | 平林 祐介  | 東京大学・大学院工学系研究科(工学部)・准教授   | 1 |
| A01<br>公 | 20H04908<br>神経伝達の場を提供するミトコンドリアー細胞膜連携ゾーンの機能および形成原理の理解 | 令和 2 年度<br>～<br>令和 3 年度 | 樽野 陽幸  | 京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・教授 | 1 |
| A01<br>公 | 20H04901<br>脂質交換輸送ゾーンの形成機構と生理機能の解明                   | 令和 2 年度<br>～<br>令和 3 年度 | 中津 史   | 新潟大学・医歯学系・准教授             | 1 |
| A01<br>公 | 20H04914<br>ミトコンドリア内における自然免疫応答ゾーンの探索的研究              | 令和 2 年度<br>～<br>令和 3 年度 | 小柴 琢己  | 福岡大学・理学部・教授               | 1 |
| A01<br>公 | 20H04911<br>MITOL による MAM 形成の制御機構と生理機能               | 令和 2 年度<br>～<br>令和 3 年度 | 柳 茂    | 学習院大学・理学部・教授              | 1 |
| A01<br>公 | 20H04896<br>内分泌細胞における入出力の会合点・一次線毛・ゴルジ連携ゾーンの機能的意義の解明  | 令和 2 年度<br>～<br>令和 3 年度 | 甲賀 大輔  | 旭川医科大学・医学部・准教授            | 1 |
| A02<br>公 | 20H04904<br>繊毛内と細胞質を隔てるトランジション・ゾーンの構築様式と選択的タンパク質透過機構 | 令和 2 年度<br>～<br>令和 3 年度 | 中山 和久  | 京都大学・薬学研究科・教授             | 1 |
| A02<br>公 | 20H04909<br>シアリル化による膜受容体の選別輸送ゾーンの特異性とその制御機構の解明       | 令和 2 年度<br>～<br>令和 3 年度 | 顧 建国   | 東北医科薬科大学・薬学部・教授           | 1 |
| A02<br>公 | 20H04903<br>数理モデリングを用いた選別輸送ゾーンのメカニズムの理解              | 令和 2 年度<br>～<br>令和 3 年度 | 立川 正志  | 京都大学・ウイルス・再生医科学研究所・准教授    | 1 |
| A02<br>公 | 20H04897<br>小胞体上の分泌ゾーン ERES の局在決定機構                  | 令和 2 年度<br>～<br>令和 3 年度 | 齋藤 康太  | 秋田大学・医学系研究科・教授            | 1 |
| A02<br>公 | 20H04915<br>S-アシル化修飾ゾーンによるシナプス機能制御                   | 令和 2 年度<br>～<br>令和 3 年度 | 深田 正紀  | 生理学研究所・分子細胞生理研究領域・教授      | 1 |

|                     |   |                     |        |                     |   |
|---------------------|---|---------------------|--------|---------------------|---|
| 公                   | 20H04895 (廃止)<br>エンドソームとミトコンドリアの<br>連携ゾーンによる細胞生理機能制<br>御機構の解明 | 令和2年度<br>～<br>令和3年度 | 大場 雄介  | 北海道大学・医学研究院・教<br>授  | 1 |
| 公                   | 20H04912 (廃止)<br>Msp1 によるオルガネラ間コンタ<br>クトを介したタンパク質交通の校<br>正    | 令和2年度<br>～<br>令和2年度 | 遠藤 斗志也 | 京都産業大学・生命科学部・<br>教授 | 1 |
| 公募研究 計 38 件 (廃止を含む) |   |                     |        |                     |   |

[1] 総：総括班、国：国際活動支援班、計：総括班以外の計画研究、公：公募研究

[2] 研究代表者及び研究分担者の人数（辞退又は削除した者を除く。）

## 研究領域全体に係る事項

### 3 交付決定額

| 年度       | 合計              | 直接経費            | 間接経費          |
|----------|-----------------|-----------------|---------------|
| 平成 29 年度 | 326,300,000 円   | 251,000,000 円   | 75,300,000 円  |
| 平成 30 年度 | 313,170,000 円   | 240,900,000 円   | 72,270,000 円  |
| 令和元年度    | 313,300,000 円   | 241,000,000 円   | 72,300,000 円  |
| 令和 2 年度  | 313,170,000 円   | 240,900,000 円   | 72,270,000 円  |
| 令和 3 年度  | 313,040,000 円   | 240,800,000 円   | 72,240,000 円  |
| 合計       | 1,578,980,000 円 | 1,214,600,000 円 | 364,380,000 円 |



## 4 研究領域の目的及び概要

研究領域全体を通じ、本研究領域の研究目的及び全体構想について、応募時の領域計画書を基に、具体的かつ簡潔に2頁以内で記述すること。なお、記述に当たっては、どのような点が「革新的・創造的な学術研究の発展が期待される研究領域」であるか、研究の学術的背景や領域設定期間終了後に期待される成果等を明確にすること。

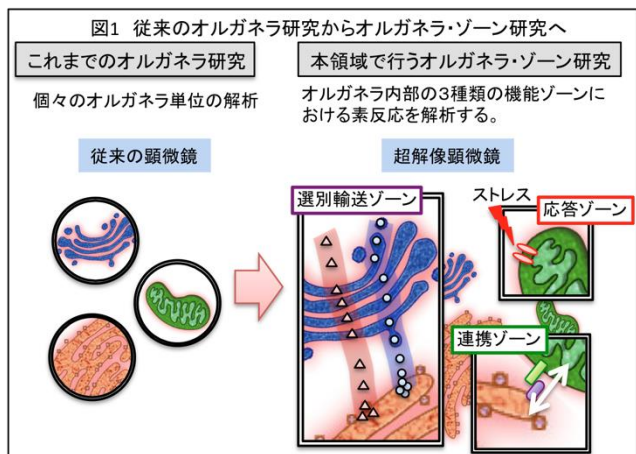
### 1) 研究の学術的背景

ミトコンドリアや小胞体などの細胞小器官（オルガネラ）は、各々が高度に専門化した役割を分担している。多様な生命現象を理解するためには、このようなオルガネラの機能や動態を正しく解析することが必要不可欠であり、このためには高度な細胞観察技術が求められる。実際に、顕微鏡の空間分解能や時間分解能の進歩に伴って、オルガネラの機能や反応が徐々に明らかにされてきた。

さらに、最近になって、STED や PALM などに代表される超解像顕微鏡の開発や高速度撮影技術の急速な進歩などにより、細胞の観察技術は飛躍的に発展しつつある。そして、オルガネラを精密に観察できるようになった結果、**① 1つのオルガネラの中に、異なる役割を担う領域が存在しうること**、**② オルガネラ機能の多くは、これらの領域における素反応の集積として発揮されること**、が明らかにされつつある。このように、従来とは異なるアプローチで、オルガネラ研究を一段深いレベルで行うことが可能となっている（図1）。本領域では、**オルガネラ研究に大きな貢献を為してきた研究者が集結し、一体となってオルガネラ研究を牽引していく。**

このような背景のもと、本領域では、オルガネラの限局された機能領域を「ゾーン」と命名し、従来のオルガネラ研究から、オルガネラ・ゾーン研究へと転換する。即ち、各オルガネラ・ゾーンでの素反応を解析することによって、オルガネラの機能や役割をより深く、より正しく知り、細胞現象や生体現象の理解に繋げていく。

具体的には、**① 様々なオルガネラストレスに対する応答の実態を、その反応の場（応答ゾーン）における素反応解析により明らかにする**。また、**② オルガネラには他のオルガネラと相互作用する機能が有ることが明らかにされつつある**。そこで、この相互作用の実態や役割を、相互作用の場（**連携ゾーン**）を解析することによって明らかにする。さらに、**③ 小胞体やゴルジ体はこれまで1つのオルガネラとして解析されてきたが、本領域の班員は、実はその内部には複数の異なる機能（例えば、糖鎖修飾やリン酸化といった機能）を有する領域が存在し、これらを経由することによって、蛋白質の修飾や輸送が適切に実行されているという革新的な知見を見出しつつ有る**。そこで、これらの領域（**選別輸送ゾーン**）の実態や役割を明らかにすることによって、小胞体やゴルジ体を、複数の選別輸送ゾーンの集合体として理解し、新たに定義し直す。



### 2) 具体的な到達目標

本領域では、オルガネラゾーンを3つのゾーンに分類し、**① 超解像顕微鏡などを用いて各ゾーンを精密に観察し**、**② これらのゾーンを構成する分子の同定や形成機構を明らかにする**。さらに、**③ 各ゾーンを人為的に調節した時のオルガネラ機能、細胞機能、生体機能の変化を解析することで、各ゾーンの生理的役割を明らかにする**。また、**④ 未知のオルガネラ・ゾーンを同定するためのスクリーニングを行い、網羅的にオルガネラ・ゾーンを明らかにしていく**。

具体的には、以下の課題に取り組む。

①「**応答ゾーンの解析**」: (1)各オルガネラにストレスを加えた時に、主にオルガネラ膜上に出現する応答ゾーンを可視化し、(2)この応答ゾーンが形成される素過程とその分子機構を明らかにする。さらに、(3)このような応答ゾーンが如何にオルガネラ機能を調節し、ひいては細胞や生体の制御に関わっているかを明らかにする。

②「**連携ゾーンの解析**」: (1)種々のオルガネラ連携ゾーン (ゴルジ体⇔小胞体、小胞体⇔ミトコンドリア、ミトコンドリア⇔ゴルジ体、リソソーム⇔ミトコンドリア、小胞体⇔核など) を構成する蛋白質や脂質の同定、(2)これらのオルガネラ連携ゾーンが、いつ、如何なる時に生じる (増減する) か、(3)連携ゾーンが形成される分子メカニズムの解明 (特異的膜脂質組成を持つゾーンの形成機構や特定の蛋白質の集合/解離など)、(4)これらのオルガネラ連携の役割 (連携を破綻させた時に生じるオルガネラや細胞の変化) を明らかにする。また、(5)新規のオルガネラ連携ゾーンを同定し、同様の解析を行う。

さらに、「オルガネラ連携」間の相互作用にも留意し、(1)刺激に応答して生じる複数のオルガネラ連携を捕捉した上で、(2)特定のオルガネラ連携を調節した時に、他のオルガネラ連携に如何なる影響が生じるかを明らかにする。

③「**選別輸送ゾーンの解析**」: 領域の研究者が発見した革新的な知見「**各蛋白質は、特定の選別輸送ゾーンで、特定の修飾を受け、細胞内各所に適切に運搬される**」をさらに詳細に解析する。即ち、(1)種々の選別輸送ゾーンの動態を超解像顕微鏡などにより観察する。(2)これらのゾーンの構成分子や機能を同定する。(3)個々の蛋白質が、適切な選別輸送ゾーンを選択するメカニズムを解明する。(4)特定の選別輸送ゾーンを人為的に調節したときのオルガネラ、細胞、個体の変化を明らかにする。さらに、(5)新規の選別輸送ゾーンを同定し、同様の解析を行う。なお、遺伝学を使えるモデル生物 (酵母、ショウジョウバエ) と哺乳動物細胞の解析を並行して行う。

### 3) 研究成果と発展性

最も大きな学術的成果は、**オルガネラ・ゾーンという概念の確立**である。オルガネラ解析のスタンダードが、オルガネラそのものの動態解析から、オルガネラ・ゾーンの解析に一段階深まることが期待できる。このような新たな視座を提示することで、独創性の高い学術領域を創成する。また、**選別輸送ゾーンの存在を証明**することは、従来の小胞体、ゴルジ体の構造や機能を定義し直すもので、革新的な知見である。

本領域は、細胞の機能ユニットであるオルガネラの役割を、よりミクロの立場から定義し直すものであり、生命現象の根幹に迫るものである。従って、本領域の成果は、生命科学の幅広い分野 (基礎生物学から疾患研究に至るまで) に波及し、我が国の学術水準を飛躍的に向上させる。さらに本領域の成果は、創薬研究にも多大な影響を与え、将来的には医学研究への大きな貢献が期待できる。例えば、ミトコンドリア⇔小胞体連携を制御できる化合物は、神経変性疾患などに応用できる可能性が考えられる。以上、「**オルガネラ・ゾーンの生物学**」は、学術的にも社会的にも大きな波及効果が期待できる。

## 5 審査結果の所見及び中間評価結果の所見で指摘を受けた事項への対応状況

研究領域全体を通じ、審査結果の所見及び中間評価結果の所見において指摘を受けた事項があった場合には、当該指摘及びその対応状況等について、具体的かつ簡潔に2頁以内で記述すること。

(審査結果の所見において指摘を受けた事項への対応状況)

本研究領域の推進にあたっては、機能ゾーンの実体を理解するだけでなく、ゾーンの形成が生物学的に必須であるか、どれくらい重要かを理解することが大切であり、この点について領域内で共有しつつ、研究を進めることが必要である。

上記指摘事項に対して、

『機能ゾーン形成の生物学的な重要性を理解し、この観点を領域内で共有し研究を進める』点に関しては、班会議等で必ずその重要性を議論した。各班の発表の後の質疑応答では、「ゾーンを破綻させる方法はあるか」、「ゾーンの生理機能は何か」という質問がくり返し議論になっていた。また、2019年度の班会議では、『ゾーン形成の生物学的な意味を明らかにする方法』をテーマとした議論の場を設けた。これらの効果によって、ほとんどの班員がゾーン形成の重要性に取り組んだ。具体的には、生物学的重要性を、以下の2段階に分け、全37チーム中30チームが解析を行なった。

①ゾーン構成分子を欠損させた時の異常：27チーム

②遺伝子発現等は変えずにゾーン形成のみを妨げた時の異常：10チーム

(中間評価結果の所見において指摘を受けた事項への対応状況)

### 中間評価 A

計画研究・公募研究ともに我が国トップクラスの研究者を集結し、超解像度顕微鏡などの優れたイメージング技術を基盤として、オルガネラの局所的機能部位を明らかにし、様々な細胞機能との結びつきを明らかにしている。特に、膜輸送について重要な発見をもたらし、新しい学術領域を拓く研究であると判断され、「オルガネラゾーン」統合解析プロジェクトは興味深い試みとして高く評価できる。研究組織内の共同研究や若手育成なども順調であり、国際的にオルガネラゾーンの概念を先導的に確立している点も評価できる。

今後は、研究領域として、「オルガネラゾーン」を生物学的に定義する共通の概念を打ち立てられるか、「オルガネラゾーン」の概念が確立されたとき、生命現象に新たな解釈が生まれるのかどうか、重要な課題である。研究領域内の一層の連携により、オルガネラゾーンという概念実証を遂げるような成果が多数生まれることが期待される。

### 参考意見

- ・論文実績が十分とは言えない計画研究がある。
- ・個別的な研究が多いように見受けられ、一層の研究領域内での連携が期待されるとの意見があった。

上記指摘事項に対して、

「オルガネラゾーンを生物学的に定義する共通の概念を打ち立てられるか」：概ね50 nm～300 nmのサイズの特定の機能部位がオルガネラ上(内)に存在することは、各班が様々な生命現象を対象として研究を進めることにより、幅広い生命現象において共通に存在することが確認された。これらが、オルガネラゾーンがとして定義づけられるものである。

「オルガネラゾーンの概念が確立されたとき、生命現象に新たな解釈が生まれるのかどうか」：応答ゾーンや連携ゾーンに関しては、その存在の同定により、これまで想像されていなかった新たな生命現象が次々と見出されている。例えば、リサイクリングエンドソーム上の応答ゾーンが、Hippo pathway（細胞増殖シグナル）を制御していること、ミトコンドリアー小胞体連携ゾーンが神経変性疾患に関わることなどは、ゾーンの概念が存在し、かつその詳細な解析が進んだことにより初めて見出された生命現象である。さらに、選別輸送ゾーンの発見は、これまで不明であった小胞体内部やゴルジ体内部での分子修飾のメカニズムを解明するものであり、教科書の記載を大きく変化させる発見である。

「個別的な研究が多いように見受けられる」：本研究領域では、世界的にトップレベルのイメージング機器SCLIMや最新プロテオミクス技術など多数の最先端技術を班員に提供することで、各班の連携を深めるように取り組んだ。その結果、延べ232件の共同研究が創出された。また、情報共有の場を繰返し提供したことにより、研究シーズの相互利用など、自然発生的な共同研究も多数行われた。これらのことより、個別的な研究をおこなった班はほとんど見受けられない。

## 6 研究目的の達成度及び主な成果

(1) 領域設定期間内に何をどこまで明らかにしようとし、どの程度達成できたか、(2) 本研究領域により得られた成果について、具体的かつ簡潔に5頁以内で記述すること。(1)は研究項目ごと、(2)は研究項目ごとに計画研究・公募研究の順で記載すること。なお、本研究領域内の共同研究等による成果の場合はその旨を明確にすること。

### (1) 領域設定期間内に何をどこまで明らかにしようとし、どの程度達成できたか

本領域では、オルガネラの限局された機能領域を「ゾーン」と命名し、①オルガネラゾーンの概念の妥当性の証明、②選別輸送ゾーンの存在の証明、③応答ゾーンや連携ゾーンの生体での役割の解明などを明らかにすることを目的とし、このために、ゾーンの可視化、構成分子や形成メカニズムの同定、ゾーンの生理機能解明などの解析を行なった。

各研究班が、さまざまな生命現象において、30を超える「オルガネラ・ゾーン」(概ね50nm~300nmのサイズの特定の機能部位)がオルガネラ上(内)に存在することを示し、それらが生理学的に重要な機能ドメインを形成していることを証明した。これらの事実は、「オルガネラ・ゾーン」という概念の妥当性を示すものである。また、複数のオルガネラゾーンにおいて、その異常が細胞機能の変調をもたらすこと、それと連関するヒト疾患が存在すること、さらには「オルガネラ・ゾーン」を標的とした創薬の可能性も示され、その生物学的重要性は明白となった。

特に、小胞体やゴルジ体の内部に選別輸送ゾーンが存在する事実を、複数の班員が示したことは、細胞生物学にとって非常に大きな進歩である。即ち、これまでは、700を超える分子がどのように適切に糖鎖修飾等を受けるかは不明であったが、実際には、個々の小胞体/ゴルジ体経路分子が自らの選別輸送ゾーンに入ること、適切な修飾や選別を受けることが明らかになった。かかる事実は、細胞生物学において、パラダイムシフトをもたらすものである。

連携ゾーンに関しては、独自の技術開発(後述)により、ゾーン形成のライブイメージング、連携ゾーン構成分子の網羅的解析に成功した。また、この技術を班員間で共有することにより、ミトコンドリア-細胞膜間など、さまざまなオルガネラ間で多様な連携ゾーンが発見された。これらの連携ゾーンにおいて、新たな細胞機能を見出すことができた。

応答ゾーンに関しては、リサイクリングエンドソーム上のゾーンが、細胞増殖シグナルを制御していること、ゴルジ体膜がタンパク質分解を実行するゾーンに使われるなど、ゾーンの概念を導入することにより、驚くべきオルガネラ機能が次々と発見された。

これらの発見は、個々のゾーンの解析として重要な知見をもたらしたとともに、ゾーンという新たな視点からの生物学の必要性を示すことができ、当初の予定を上回る成果であった。

### A01: 応答ゾーン、連携ゾーンの解析

**応答ゾーン解析の目標:** (1)各オルガネラにストレスを加えた時に、主にオルガネラ膜上に出現する応答ゾーンを可視化し、(2)この応答ゾーンが形成される素過程とその分子機構を明らかにする。さらに、(3)このような応答ゾーンが如何にオルガネラ機能を調節し、ひいては細胞や生体の制御に関わっているかを明らかにする。

**応答ゾーン解析の達成状況:** (1)オルガネラの局所で機能を発揮する12の応答ゾーンを同定した。(2)このうち、アポトーシス実行ゾーンなど、複数の応答ゾーンの可視化に成功し構造的実体を明らかにした。(3)ゴルジ体自然免疫応答ゾーンなど、複数の応答ゾーンの形成素過程と分子機構を明らかにした。さらに、(4)ゴルジ体ストレス応答ゾーンなどは、その破綻が起源となって神経細胞の生存ができず、神経変性疾患を発症するため、ゾーン機能が恒常性維持や正常な生命活動に不可欠であることを見出した。加えて、(4)刺激によって複数のゾーンが同時進行的に形成・誘導され、お互いにクロストークして、一つのオルガネラ反応となること、(5)細胞増殖に関わる Hippo 経路が、リサイクリングエンドソーム上の応答ゾーンで活性化されるなど、予想外の細胞機能が、「応答ゾーン」で実行されることを見出した。

**連携ゾーン解析の目標:** (1)種々のオルガネラ連携ゾーン(ゴルジ体⇔小胞体、小胞体⇔ミトコンドリア、ミトコンドリア⇔ゴルジ体、リソソーム⇔ミトコンドリア、小胞体⇔核など)を構成する蛋白質や脂質の同定、(2)これらのオルガネラ連携ゾーンが、いつ、如何なる時に生じる(増減する)か、(3)連携ゾーンが形成される分子メカニズムの解明、(4)これらのオルガネラ連携の役割(連携を破綻させた時に生じるオルガネラや細胞の変化)の解明、(5)新規のオルガネラ連携ゾーンの同定と解析である。

**連携ゾーン解析の達成状況:** split-GFPを用いた実験系を独自に開発し、任意のオルガネラ間連携ゾーンを生きた細胞を用いて、可視化、定量化することに成功した。以前は、固定した細胞を用いた電子顕微鏡解析でしか評価できなかった連携ゾーンを、生きた細胞を用いて、そのダイナミクスまでを解析可能に



なったことは、オルガネラゾーン研究を大きく前進させるものである。実際に、世界中からこの split-GFP のコンストラクトの供与依頼があったことも、この実験手法のインパクトの大きさを示している。またこの実験系をさらに応用し、siRNA ライブラリを用いた split-GFP のシグナルを指標とした遺伝学的スクリーニングや、split-GFP と split-TurboID (ビオチン化酵素) をタンデムに融合したモデルタンパク質を用いた生化学的解析により、連携ゾーンに集積するタンパク質を網羅的に同定することに成功した。これまで連携ゾーンに局在化する因子に関しては、逆遺伝学的な解析が主流であったが、バイアスの少ない網羅的な方法で連携ゾーン因子を同定したことは連携ゾーン研究によって大きな進歩である。特に ER-ミトコンドリア間連携ゾーン形成がヒトの神経変性疾患との関連が指摘されており、そのインパクトは大きい。さらに、ER ストレス環境では ER-ミトコンドリア間連携ゾーンが動的に変化することで、これらのオルガネラ間におけるリン脂質輸送を制御し、その結果 ER ストレス軽減のための ER 膜の拡大を引き起こすことも見出した。これらの発見は、連携ゾーンのダイナミクスが細胞ストレス応答に重要であることを示す先駆的なものである。

具体的には、(1)ミトコンドリア⇄小胞体ゾーンを中心に、11 の連携ゾーンの可視化、構成分子の同定、生理機能の解明に成功した。(2)ミトコンドリア⇄小胞体ゾーン以外に、新たにミトコンドリア、小胞体、ペルオキシソーム、液胞、脂肪滴のすべての組み合わせにおいて連携ゾーンが存在すること、(3)様々なオルガネラの間連携ゾーンが、細胞ストレス環境において、ダイナミックその数や程度を変化させ、細胞ストレス応答に重要な役割を果たしていること、(4)同じオルガネラ間でも、異なる機能を発揮する複数の連携ゾーンが存在すること。(5)未知の連携ゾーンの同定法、可視化法の確立に成功した。

### A02: 選別輸送ゾーンの解析

**選別輸送ゾーン解析の目標:** (1)種々の選別輸送ゾーンの動態を超解像顕微鏡などにより観察する。(2)これらのゾーンの構成分子や機能を同定する。(3)個々の蛋白質が、適切な選別輸送ゾーンを選択するメカニズムを解明する。(4)特定の選別輸送ゾーンを人為的に調節したときのオルガネラ、細胞、個体の変化を明らかにする。さらに、(5)新規の選別輸送ゾーンを同定し、同様の解析を行う。

**選別輸送ゾーン解析の達成状況:** (1)酵母細胞や哺乳動物細胞の小胞体やゴルジ体においても、複数の選別輸送ゾーンが存在することを証明した。(2)複数のゾーンに関して、高精度の可視化、構成分子の同定に成功した。(3)ゾーン構成分子をゾーン外に移動させると、機能が失われることを証明し、ゾーン形成の生物学的重要性を確認することができた。さらに、(4)積荷蛋白質に付与されたシグナルと膜の相互作用によって、通過するゾーンが決定されること、(5)ゾーンは細胞のおかれた環境によって、ダイナミックにエリアを拡大縮小させうること、(6)複数の選別輸送ゾーンを制御できるマスター分子が存在する可能性があることなどを見出した。酵母細胞から哺乳動物細胞に至るまで、選別輸送ゾーンが存在することを実証したことは、小胞体、ゴルジ体をはじめとする細胞内蛋白質輸送の理解にパラダイムシフトをもたらす大きな発見である。

### 総括班: オルガネラゾーン統合解析プロジェクト

一つの細胞内で、複数のオルガネラゾーンが、同時多発的に形成されることが予想される。複数のオルガネラゾーンのクロストークを調べるために、インスリン分泌の際に形成されるオルガネラゾーンを、総括班メンバーが総力をあげて解析した(図2)。膵β細胞では、周囲のグルコース濃度を低下させると、インスリン分泌が急速に遮断され、細胞内インスリンが分解される。この時に生じるゾーンを解析した。その結果、細胞内のインスリンを分解するために、①ゴルジ体蛋白質分解応答ゾーンが活性化し、さらに、②ゴルジ体転写活性応答ゾーン、③小胞体関連分解ゾーン、④ミトコンドリアーゴルジ体連携ゾーンが同時に活性化されることが確認できた。さらに、ゴルジ体蛋白質分解応答ゾーンを破壊させると、他の3つのゾーンがさらに活性化されることを見出し、一つのゾーンが、他のゾーンとクロストークしていることが明らかとなった。これらの事実は、オルガネラ・ゾーンの同時多発性、ゾーン間のクロストークの重要性を示している。

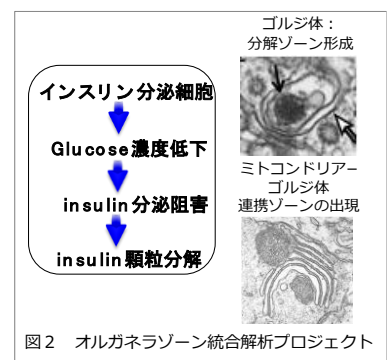


図2 オルガネラゾーン統合解析プロジェクト

### (2) 本研究領域により得られた成果について

以下、個別のゾーン解析成果を示すが、(A)ゾーン同定、(B)可視化、(C)構成分子や形成メカニズムの同定、(D)生理機能解明、(E)疾患との関わり、(F)ゾーン間の連携、に関する研究である。

### 計画研究 A01: 応答ゾーン、連携ゾーンの解析

1、清水班(研究分担者: 吉田、田村、矢木、細谷): 領域内共同研究者(中野、花田、尾野、加藤など)

ゴルジ体ストレス応答ゾーンは、ゴルジ体に負荷がかかった時（細胞外分泌が過剰な時など）に形成され、余剰蛋白質の分解を担う蛋白質分解ゾーンと、糖鎖修飾を増強させる転写制御ゾーンが形成される。

①蛋白質分解ゾーン（清水）では、一部のトランスゴルジ膜が余剰蛋白質を包み込むというユニークなゾーンを形成して、オートファジー様分解を実行している。このゾーンを、(A)発見し、(B)特異プローブを開発して可視化し、(C)ゾーン形成に関わる分子として Wipi3 などを同定したほか、ゴルジ体⇔小胞体(ER)連携ゾーンを介した脂質流出が重要であることを見出した。また、(D)ホルモンなどのゴルジ体輸送分子の輸送量を制御していること、(E)ヒトの神経変性疾患の原因となっていること、(F)転写制御ゾーンとクロストークしていることを発見した(Cell Stress 2018, Nat. Commun. 2020a, b)。

②転写制御ゾーン（吉田）は、(A)プロテオグリカンやムチン合成に負荷がかかった時に、ゴルジ体で形成される。(C)前者では、転写エンハンサー配列 PGSE と転写因子 KLF family が、後者ではエンハンサー配列 MGSE と転写因子候補 RelA が重要であることを見出した (Cell Struct. Funct. 2018)。

③ミトコンドリア (Mt) ⇔ ER 連携ゾーン（田村）に関しては、(B) Split-GFP を用いて可視化できる系を構築したほか、(C) Split-GFP と split-TurboID をタンデムに融合した人工タンパク質を用いて、ゾーン構成分子を網羅的に同定した。また、(D) Mt に誤配送されたタンパク質を ER に送り込んで分解するために用いられていることを見出した (Sci Rep. 2018, Mol. Cell 2019)

④ゴルジ体選別輸送ゾーン（矢木）に関して、(A)種々の糖転移酵素が各々独立したゾーンに局在すること、(D)基質となるカーゴ分子が独自の輸送経路を通ることを見出した (Nat. Commun. 2020)。

## 2、齊藤班（研究分担者：森田）：領域内共同研究者（清水、花田、加藤、尾野など）

①自然免疫ゴルジ体応答ゾーン（齊藤）は、DNA ウイルスに対する防御応答に関わる STING 分子が機能するゴルジ体内のゾーンである。(C) (D) 当該ゾーンにおいて STING を制御して DNA ウイルスの複製を抑制する分子として RAB2B および GARIL5 を同定した (Cell Rep. 2017)。

②細胞膜サイトカイン放出ゾーン（齊藤）は、Mt 損傷等の時に、サイトカイン放出を行う細胞膜上のゾーンである。(B) 当該ゾーンを Live-Cell Imaging of Secretion activity を用いて可視化したほか、(C) ゾーン形成に関わる分子を同定した。加えて、(E) 当該ゾーンを介したサイトカイン放出を抑制する化合物を同定し、その抗炎症効果を示した (Int Immunol. in press)。

③損傷リソソーム応答ゾーン（森田）は、損傷リソソームがオートファジー経路によって認識されるゾーンである。(C) 当該ゾーンに局在するオートファジーレセプター HEATR3 を同定し、(D) 細菌の細胞内増殖における重要性を明らかにした（投稿中）。

④複製オルガネラ（ウイルスの複製を行う場）⇔Mt 連携ゾーンは、(A) フラビウイルス感染時に形成されることを発見し、(C) TMEM43 が重要な構成分子であること、(D) 当該ゾーンはウイルス増殖に必要であることを見出した (J Virol. 2021, PLoS Pathog. 2022, J Biol Chem. 2022)。

## 3、今泉班（研究分担者：金子）：領域内共同研究者（清水、後藤、中野など）

①核⇔ER 連携ゾーン（今泉/金子）が、(A) DNA 損傷後に形成されることを発見した。(C) 当該ゾーンでは核ラミナ構造が崩壊し、ラミンが消失した部位に OASIS, BAF, ESCRT-III, LEM-domain protein が集積する (Cell Death Discovery. 2021)。また、(C) 核膜破綻から細胞質に漏出した染色体 DNA を BAF が認識し、ESCRT-III や LEM が膜修復を促進させること、(C) 転写因子 OASIS は p21 を転写誘導することで細胞周期を停止させること、(D) これらの協調的な働きにより核膜が修復されることを見出した。(E) 一部のがん細胞では、この OASIS 依存的核膜修復機構が抑制されており、細胞増殖が正に調節されていることも見出した。(Cell Death Discov. 2021)

## 4、花田班（研究分担者：下嶋、加藤）：領域内共同研究者（清水、泉、吉田など）

①ER⇔ゴルジ体連携ゾーン（花田）が、(A) セラミド輸送に機能していることを見出した。また、(C) セラミド運搬蛋白質 CERT のリン酸化制御機構を原子レベルで解明した。さらに、(E) このゾーンと疾患との関連性を見出した。即ち、優性遺伝性の精神発達遅滞と関連する *CERT1* 上の様々なミスセンス変異が、CERT のリン酸化制御に関わっていることを見出した。また、(C) (F) CERT の抑制的リン酸化を担う casein kinase 1 $\gamma$  のコンパートメント化が本キナーゼの適切な機能調節に必要であることを明らかにした。(JBC 2018, iScience, 2022, PLoS ONE, 2020, JBC, 2021)

②小胞体⇔葉緑体連携ゾーン（下嶋）は、小胞体から葉緑体への脂質供給に機能している。新たに、(D) この連携ゾーンが、リン欠乏だけでなく窒素欠乏時の植物の生育にも必須であること、(D) 窒素欠乏時の葉緑体光合成膜の崩壊を抑制することを見出した (Front Plant Sci. 2017)。

③ゾーン観察法の開発（加藤）：(B) 2カメラ SIM を用いて 30 nm 以下の精度で分子の共局在を検証する方法を確立したほか、無染色のオルガネラ観察法(アポタイズド顕微鏡)を確立した。(Genes Cells. 2019)

## 5、新井班（研究分担者：河野、向井）：領域内共同研究者（清水、尾野など）

- ①細胞増殖シグナルゾーンが、(A) リサイクリングエンドソーム上に存在することを発見した。また、(C) ホスファチジルセリン (PS) がゾーンを形成しており、フリッパーゼ ATP8A1 や Eevctin2 が実行分子であること、(D) 細胞増殖シグナル Hippo-YAP 経路を制御していることを発見した (Nat. Commun. 2017)。
- ②自然免疫ゴルジ体応答ゾーンは、DNA ウイルスに対する防御応答に関わる STING 分子が機能するゴルジ体内部のゾーンであり、(C) STING のパルミトイル化が重要であることを見出した (PNAS 2018)。
- ③酸化リン脂質ゾーンは、(A) マスト細胞の活性化を制御するゾーンであり、(D) ゾーンから産生される  $\omega 3$  エポキシドが重要であることを見出した (Nat. Med. 2017)。
- ④(A) 精子細胞における ER $\leftrightarrow$ Mt 連携ゾーンを発見した。(C) このゾーンには特殊なカルジオリピン (TPCL) が存在しており、(D) 精子形成能に関わっていることを発見した。

## 公募研究 A01：応答ゾーン、連携ゾーンの解析：領域内共同研究者（清水、中野、加藤、原田など）

**ゾーン解析法の開発：**(B) 走査電子顕微鏡によるオルガネラ観察法(オスミウム浸軟法、連続切片 SEM・3D 再構築法、光・電子相関観察法)を開発した (Front. Neuroanat. 2021; 甲賀)。また、オルガネラの形態変化を秒のオーダーで誘導可能な生体分子デバイスの開発に成功した (Cell Rep Methods. 2022; 宮本)。

**応答ゾーン：Mt、葉緑体：**(A) これらがオートファジーによって分解される時に形成される分解ゾーンを発見し、(C) 関連分子を同定した (Plant Physiology 2018; 泉)。(C) Mt に存在する複数のウイルス応答ゾーン分子を捕捉した (iScience 2019, Nat. Commun 2019, 2020; 小柴)。**小胞体：**(A) その内部に還元環境の異なるレドックスゾーンが存在すること、(C) ゾーン形成に還元酵素 ERdj5 が関わっていること、(D) (E) このゾーンが Mt の構造維持や、細胞老化に関わっていることを見出した (Sci. Rep. 2021; 潮田)。

**エンドソーム：**(A) ウイルス核酸を認識できる TLR3 応答ゾーンを発見し、(C) 調節分子として Rab7a を同定した (Nat. Immunol. 2018; 齋藤)。その他、(A) リボソーム生合成障害に対する応答として核小体ストレスゾーンを同定した。(E) 癌発症のドライバーとなることを見出した (Sci Adv 2020, PNAS 2022; 鈴木聡)。

**連携ゾーン：Mt $\leftrightarrow$ ER 連携：**5名の研究者が別々のゾーン構成分子に着目して研究を進めた。その結果、このゾーンでは、(D) Mitol1 による ER ストレス制御が行われていること (EMBO J. 2019; 柳)、

(C) CKAP4、TMEM などがこのゾーンの機能制御に寄与していること (J. Cell Sci 2020; 菊池、山本)、

(E) このゾーン形成には sigmaR1 も機能しており、その異常は神経変性疾患の原因となることを見出した (FASEB J, 2021; 山中)。また、深層学習を用いた電子顕微鏡画像解析により、このゾーンがミトコンドリアのクリステ形成に必要であることを明らかにした (平林)。

**Mt $\leftrightarrow$ エンドソーム連携：**(A) このゾーンの存在を見出し、(B) イメージングに成功したほか、(C) 光遺伝学とノックダウンによってゾーン制御分子を同定した (Cell Struct. Funct. 2019; 大場)。

**Mt $\leftrightarrow$ 細胞膜連携：**(A) 味蕾細胞においてこのゾーンを発見し、(C) (D) コア分子 CALHM チャネルの構造と局在制御機構を解明した (Sci Adv, 2020;

FASEB J, 2021; 樽野)。

**ER $\leftrightarrow$ エンドソーム連携：**(A) このゾーンの存在を見出し、(C) エンドソームへ供給されるホスファチジルセリンが TGN への逆行輸送を制御することを見出した (JCB. 2022; 中津)。また、(C) コア分子として Protrudin-PDZD8 複合体を同定し、(D) エンドソーム成熟に機能することを明らかにした (Nat. Commun. 2020; 白根)。

**ER $\leftrightarrow$ オートファジー膜連携：**(C) オートファジー実行に必要なゾーンであり、(C) このゾーン形成に必要な分子を発見した (Nature. 2020; Mol. Cell, 2019; Nat. Struct. Mol. Biol. 2019; 鈴木(邦))。

## 計画研究 A02：選別輸送ゾーンの解析：領域内共同研究者（清水、加藤、花田、今泉、森田など）

1、森班（研究分担者：西頭、片桐、尾野、名黒）：主に、**哺乳動物細胞の小胞体選別輸送ゾーン**を解析した。森らは、超解像顕微鏡解析により初めて、(A) ER 内部において、ATF6 や Derlin-1 さらには Derlin-2/SEL1L が別々に局在することを見出し、**選別輸送ゾーンの存在を証明した**。(B) ER ストレスセンサー ATF6 局在ゾーンを可視化したほか、(C) ATF6 の活性化に PERK や COPII が関与していることを見出した。また、(B) 小胞体関連分解に関わる Derlin-1 局在ゾーン、Derlin-2 局在ゾーンの可視化にも成功した。(C) Derlin-2 局在ゾーンには、SEL1L、HRD1 等も共局在し、ATF6 の分解に必須であることを見出したほか、このゾーンでのタンパク分解に寄与する糖鎖刈り込み機構を明らかにした (eLife. 2020, 2021)。さらに、(D) Derlin-2 局在ゾーンを欠損するとフラビウイルスの増殖が抑制されることを見出した (J. Virol. 2021)。西頭らは、(A) ERAD と異なる分解機構である ERpQC が ER 膜上でゾーンを形成していること、(C) ERpQC ゾーンの必須分子を見出した (C) (Sci Rep. 2018)。また、**Mt $\leftrightarrow$ ER 連携ゾーン**に関しては、(C) Mt ストレスによって ER 分子 PERK がリン酸化されること、(D) これが褐色脂肪の分化に重要であることを見出した (Life Sci Alliance. 2020)。片桐らは、(A) (E) がん細胞特異的に形成される**ゴルジ体 $\leftrightarrow$ 小胞体シャトルゾーン**を発見し、(B) IRE1 の O 型糖鎖修飾認識抗体によって可視化を行った。また、(C) 輸送関連



分子として ERGIC-53 などを同定した。さらに、(A) 分泌タンパク質 LGAL3BP の小胞体からゴルジ体輸送、の結合型糖鎖修飾に関わるゾーンならびに、(D) 細胞増殖への関与を発見した (Int J Oncol. 2020)。

**2、中野班 (研究分担者：黒川)：**主に、酵母、植物の小胞体選別輸送ゾーンを解析した。SCLIM によるライブイメージング解析により初めて、(A) (B) ER からゴルジ体への移行部 (ER exit site) において、GPI アンカー型および非 GPI アンカー型蛋白質の異なる局在を示し、選別輸送ゾーンの存在を実証した (Sci. Adv. 2020)。また、(C) 小胞体脂質に含まれるセラミドの脂肪酸鎖長が、GPI アンカー型蛋白質の選別ゾーンへの集積と ERES への選別を制御していることを発見した (Sci. Adv. 2020)。この成果は、蛋白質選別に膜脂質が必須な役割を果たすことを、世界ではじめて実験的に示したものと高く評価された (Top 0.5% in Cell Biology)。さらに、(C) 積荷側の GPI アンカーのセラミド脂質へのリモデリングとそれを認識する糖鎖修飾が、選別の品質管理に必須であることを示した (Cell Rep. 2022)。また、(A) 植物トランスゴルジ網 (TGN) での選別輸送ゾーンを発見した。即ち、(B) 細胞膜あるいは液胞膜へ輸送される積荷蛋白質の選別に特化した区画が、単一の TGN 上に分離して存在することを可視化、証明した (Nat. Commun. 2021) (Top 1% in Plant Biology)。

**3、後藤班 (研究分担者：石川、金川)：**主に、Drosophila のゴルジ体選別輸送ゾーンを解析した。後藤らは、(A) Drosophila において GPI 合成酵素 PIG-B が核膜に局在し選別輸送ゾーンを形成していること、(D) このゾーン形成は GPI 合成に必要であること、(C) PIG-B は核ラミナの主要因子ラミナと結合することで核膜ゾーンに局在することを見出した (JCS, 2018, 2020)。 (D) このゾーンは、核膜の強度、染色体の配置、筋組織の維持に必要である。石川らは、(A) リン酸化酵素 Fj が局在するゴルジ体上の リン酸修飾ゾーンを発見した。また、(C) このゾーン形成に、Fj の自己リン酸化や新規遺伝子 *flf1* と *2* が必要であること、(D) ゾーンが翅の正常発生に必要であることを見出した。金川らは、(A) 筋ジストロフィーの原因になるジストログリカンの糖鎖修飾ゾーン (リビトールリン酸修飾) を同定した。また、(E) このゾーンを破壊すると、筋ジストロフィーなどの疾患を引き起こすことを見出した。さらに、(E) ゾーン解析を基にプロドラッグを開発したところ、モデルマウスにおいて治療効果が得られた (Nat. Commun 2019, 2022)。

**4、原田班 (研究分担者：木下、西野)：**主に、哺乳動物細胞のゴルジ体選別輸送ゾーンを解析した。原田らは、(A) (B) 各種糖修飾酵素遺伝子のゴルジ体内での局在を精査し、ゴルジ体選別輸送ゾーンを同定、可視化した。即ち、(1) *0*型糖転移酵素 (GALNT6) と proteoglycan の糖転移酵素 (XYLT2) の局在がほぼ相互排他的に分布しており、各々が選別輸送ゾーンを形成していること、(2) 基質の proteoglycan (syndecan2) は糖鎖合成の順序に従い、XYLT2 のゾーンから NDST1 のゾーンへと移動することを明らかにした。また、(A) リサイクリングエンドソーム⇔TGN 連携ゾーンを同定し、(D) コレステロール輸送に関わること、(C) 複数の実行分子 (RELCH, Rab11a, OSBP) を同定した (JCB, 2018) (2018 年の本誌の 10 大論文)。さらに、細胞の Apical 面に局在する adherens junction ゾーンを解析し、(C) SNAP23, VAMP8 などの SNARE complex が必要であることを明らかにした (JCB, 2021)。木下らは、(A) (D) ER 内に GPI 生合成ゾーン (GPI 生合成を増強する因子が集積した応答ゾーン) が存在することを見出した (Nat. Commun 2022)。さらに、(A) (C) GPI アンカーの生合成中間体であるグルコサミン-ホスファチジルイノシトールが内腔側にフリップするゾーンと新規の脂質スクランブラーゼを同定した (PNAS, 2022)。

#### 公募研究 A02: 選別輸送ゾーンの解析

小胞体選別輸送ゾーン：小胞体出芽部位 (ERES) は、細胞周期によって崩壊と再形成を行い選別輸送ゾーンを形成しているが、(C) (D) この過程に TANGO1 のリン酸化制御が関与することを見出した (Dev. Cell 2020; 齋藤康)。また、ERES 選別輸送ゾーンの形成過程を数理解析した (立川)。

ゴルジ体選別輸送ゾーン：(A) (C) シアリル化と分岐型 N-型糖鎖の生合成に関わる選別輸送ゾーンの制御メカニズムを同定した (JBC 2019, FASEB J. 2022; 顧)。また、(A) (C) 神経の輸送小胞カーゴである APP 小胞、Alcadein  $\alpha$  小胞は、各々異なった選別輸送ゾーンに存在していることを見出した (鈴木利)。さらに、(A) (C) (D) (E) シナプスの足場タンパク質 PSD-95 の 選別輸送ゾーンを調節する ADAM22 に関して、生理機能解析、病態マウスの作成、ヒト変異解析を行った (PNAS 2021, Cell Rep. 2021, Brain 2022; 深田)。 繊毛選別輸送ゾーンに関して、(E) 遺伝子変異に起因する繊毛病の分子基盤を解明した (Hum. Mol. Genet. 2021, 2022; 中山)。 TGN 選別輸送ゾーンに関して、(C) AP-1 ゾーンと液胞輸送経路を制御する AP-4 ゾーンが存在すること、前者にはクラスリンと VAMP721 が局在することを見出した (Plant Physiol. 2019, Nat. Commun. 2021; 植村)。

## 7 研究発表の状況

研究項目ごとに計画研究・公募研究の順で、本研究領域により得られた研究成果の発表の状況（主な雑誌論文、学会発表、書籍、産業財産権、ホームページ、主催シンポジウム、一般向けアウトリーチ活動等の状況。令和4年6月末までに掲載等が確定しているものに限る。）について、具体的かつ簡潔に5頁以内で記述すること。なお、雑誌論文の記述に当たっては、新しいものから順に発表年次をさかのぼり、研究代表者（発表当時、以下同様。）には二重下線、研究分担者には一重下線、corresponding author には左に\*印を付すこと。

【原著】全て査読あり

### A01: 応答ゾーン、連携ゾーンの解析

A01-1 清水重臣、吉田秀郎、田村 康、矢木宏和、細谷孝充（全12報中12報を記載）

- 1, Yamaguchi H, Honda S, Katoh K, (他7名), \*Shimizu S. Wipi3 is essential for alternative autophagy and its loss causes neurodegeneration. **Nat. Commun.** 11, 5311, 2020.
- 2, Torii S, Yamaguchi H, Nakanishi A, (他4名), \*Shimizu S. Identification of a phosphorylation site on Ulk1 required for genotoxic stress-induced alternative autophagy. **Nat. Commun.** 11, 1754, 2020.
- 3, Tamura T, (他7名), Tamura Y, \*Hamachi I. Organelle membrane-specific chemical labeling and dynamic imaging in living cells. **Nat. Chem. Biol.** 16, pages1361-1367, 2020
- 4, Yagi H, (他12名), \*Kato K. Improved secretion of glycoproteins using an N-glycan-restricted passport sequence tag recognized by cargo receptor. **Nat. Commun.** 11, 1368, 2020
- 5, Muraoka N, Nara K, Nakanishi A, (他4名), Shimizu S, \*Ieda M. Role of cyclooxygenase-2/prostaglandin E2/prostaglandin E receptor 4 signaling in cardiac reprogramming. **Nat. Commun.** 10, 374, 2019.
- 6, Matsumoto S, (他3名), Tamura Y, \*Endo T. Msp1 Clears Mistargeted Proteins by Facilitating Their Transfer from Mitochondria to the ER. **Mol. Cell** 76(1) 191-205.e10, 2019
- 7, Sakaue H, (他3名), Tamura Y, (他8名), \*Endo T. Porin Associates with Tom22 to Regulate the Mitochondrial Protein Gate Assembly. **Mol. Cell** 73(5) 1044-1055.e8, 2019
- 8, Kojima R, (他5名), \*Tamura Y. Maintenance of Cardiolipin and Crista Structure Requires Cooperative Functions of Mitochondrial Dynamics and Phospholipid Transport. **Cell Rep.** 26(3) 518-528.e6, 2019
- 9, Kawano S, Tamura Y, (他9名), Endo T. Structure-function insights into direct lipid transfer between membranes by Mmm1-Mdm12 of ERMES. **JCB.** 217(3) 959-974, 2018
- 10, Sasaki K, (他9名), \*Yoshida H. PGSE Is a Novel Enhancer Regulating the Proteoglycan Pathway of the Mammalian Golgi Stress Response. **Cell Struct. Funct.** 44, 1-19, 2019.
- 11, \*Yoshida S, (他8名), \*Hosoya T. A facile preparation of functional cycloalkynes via an azide-to-cycloalkyne switching approach. **Chem. Commun.** 55, 3556-3559, 2019.
- 12, Iwashita H, (他6名), Shimizu S, \*Ueno Y. Fluorescent small molecules for monitoring autophagic flux. **FEBS let.** 592, 559-567, 2018.

A01-2 齊藤達哉、森田英嗣（全27報中7報を記載）

1. Matsui Y, (他13名), \*Saitoh T. Nanaomycin E inhibits NLRP3 inflammasome activation by preventing mitochondrial dysfunction. **Int Immunol.** in press.
2. Ikoma K, (他7名), \*Saitoh T. Oridonin suppresses particulate-induced NLRP3-independent IL-1 $\alpha$  release to prevent crystallopathy in the lung. **Int Immunol.** in press.
3. Liu CC, (他10名), Morita E. \*Zhou B. Cellular ESCRT components are recruited to regulate the endocytic trafficking and RNA replication compartment assembly during classical swine fever virus infection. **PLoS Pathog.** 18(2):e1010294. 2022.
4. Omori S, (他9名), Saitoh T, (他4名), \*Nakayama M. Tim4 recognizes carbon nanotubes and mediates phagocytosis leading to granuloma formation. **Cell Rep.** 9;34(6):108734, 2021.
5. Arakawa M, \*Morita E. Flavivirus replication organelle biogenesis in endoplasmic reticulum: comparison with other single-stranded positive-sense RNA viruses. **Int. J. Mol. Sci.** 20, 2336, 2019.
6. DeVorkin L, (他10名), Saitoh T, (他8名), \*Lum JJ. Autophagy Regulation of Metabolism Is Required for CD8+ T Cell Anti-tumor Immunity. **Cell Rep.** 27, 502-513, 2019.
7. Takahama M, (他7名), \*Saitoh T. The RAB2B-GARIL5 Complex Promotes Cytosolic DNA-Induced Innate Immune Responses. **Cell Rep.** 20, 2944-2954, 2017.

A01-3 今泉和則、金子雅幸（全17報中7報を記載）

- 1, Kamikawa Y, Saito A, \*Imaizumi K. Impact of nuclear envelope stress on physiological and pathological processes in central nervous system. **Neurochemical Research**, 2022.
- 2, Kamikawa Y, (他2名), Kaneko M, Asada R, Horikoshi Y, Tashiro S, \*Imaizumi K. OASIS/CREB3L1 is a factor that responds to nuclear envelope stress. **Cell Death Discovery**, 7: 152, 2021
- 3, Matsuhisa K, \*Imaizumi K. Loss of function of mutant IDS due to endoplasmic reticulum-associated degradation: new therapeutic opportunities for mucopolysaccharidosis type II. **Int. J. Mol. Sci.** 22, 12227, 2021.
- 4, Matsuhisa K, (他7名), \*Imaizumi K. Toxic effects of endoplasmic reticulum stress transducer BBF2H7-derived small peptide fragments on neuronal cells. **Brain Res.** 1749: 147139, 2020.
- 5, Matsuhisa K, (他2名), Kaneko M, (他9名), \*Imaizumi K. Production of BBF2H7-derived small peptide fragments via endoplasmic reticulum stress-dependent regulated intramembrane proteolysis. **FASEB J.** 34: 865-880, 2020.
- 6, Maeoka Y, (他8名), \*Imaizumi K, \*Kaneko M. NFAT5 up-regulates expression of the kidney-specific

ubiquitin ligase Rnf183 under hypertonic conditions in inner-medullary collecting duct cells. **J Biol. Chem.** 294: 101-115, 2019.

- 7, Osaki Y, (他 2 名), Kaneko M, (他 6 名), \*Imaizumi K. Shutdown of ER-associated degradation pathway rescues functions of mutant iduronate 2-sulfatase linked to mucopolysaccharidosis type II. **Cell Death Dis.** 9, 808, 2018.

#### A01-4 花田賢太郎、下嶋美恵、加藤薫 (全 40 報中 7 報を記載)

- 1, Goto A, (他 3 名), \*Hanada K. Compartmentalization of casein kinase 1  $\gamma$  CSNK1G controls the intracellular trafficking of ceramide. **iScience** 2022, in press.
- 2, Shimasaki K, (他 3 名), \*Hanada K. Hyperosmotic stress induces phosphorylation of CERT and enhances its tethering throughout the endoplasmic reticulum. **Int. J. Mol. Sci.** 23, 4025, 2022.
- 3, Tamura N, (他 5 名), \*Ortigoza-Escobar JD, \*Hanada K. Intellectual disability-associated mutations in the ceramide transport protein gene *CERT1* lead to aberrant function and subcellular distribution, **J. Biol. Chem.** 297, article 101338, 2021
- 4, \*Rizzo R, (他 21 名), Hanada K, (他 7 名), \*Luini A. Golgi maturation-dependent glycoenzyme recycling controls glycosphingolipid biosynthesis and cell growth via GOLPH3. **EMBO J.**, 40, e107238, 2021
- 5, Yoshitake Y, (他 5 名), \*Shimojima M. RCB-mediated chlorophagy caused by oversupply of nitrogen suppresses phosphate-starvation stress in plants. **Plant Physiol.** 185, 318-330, 2021
- 6, Ohzono T, Katoh K, (他 2 名), \*Eugene M. Terentjev. Internal constraints and arrested relaxation in main-chain nematic elastomers. **Nat. Commun.** 12, 787, 2021
- 7, Sugiki T, (他 6 名), \*Hanada K, \*Takahashi H. Phosphoinositide binding by the PH domain in ceramide transfer protein (CERT) is inhibited by hyperphosphorylation of an adjacent serine-repeat motif. **J. Biol. Chem.** 293, 11206-11217, 2018.

#### A01-5 新井洋由、河野 望、向井康治朗 (全 39 報中 9 報を記載)

1. Moriyama H, (他 3 名), Kono N, (他 13 名), Arai H, Sano M. Omega-3 fatty acid epoxides produced by PAF-AH2 in mast cells regulate pulmonary vascular remodeling. **Nat. Commun.** 13, 3013, 2022.
2. Mukai K, (他 8 名), Arai H, Shum AK, \*Taguchi T. Homeostatic regulation of STING by retrograde membrane traffic to the ER. **Nat. Commun.** 12, 61, 2021
3. Tanaka Y, (他 13 名), Arai H, Romeo S, \*Kono N. LPIAT1/MBOAT7 depletion increases triglyceride synthesis fueled by high phosphatidylinositol turnover. **Gut.** 70:180-193, 2021
4. Deng Z, (他 2 名), Mukai K, (他 5 名), \*Shum AK. A defect in COPI-mediated transport of STING causes immune dysregulation in COPA syndrome. **J. Exp. Med.** 217, e20201045, 2020
5. Tsuji T, (他 7 名), Arai H, (他 2 名), \*Fujimoto T. Predominant localization of phosphatidylserine at the cytoplasmic leaflet of the ER, and its TMEM16K-dependent redistribution. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 116, 13368-13373, 2019
6. Nishimura T, (他 5 名), Arai H, Kono N, \*Stefan CJ. Osh Proteins Control Nanoscale Lipid Organization Necessary for PI(4,5)P<sub>2</sub> Synthesis. **Mol. Cell** 75, 1043-1057.e8, 2019
7. Hansen AL, (他 2 名), Mukai K, (他 20 名), Arai H, (他 3 名), \*Holm CK. Nitro-fatty acids are formed in response to virus infection and are potent inhibitors of STING palmitoylation and signaling. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 115, E7768-E7775, 2018
8. Shimanaka Y, Kono N, (他 10 名), \*Arai H. Omega-3 fatty acid epoxides are autocrine mediators that control the magnitude of IgE-mediated mast cell activation. **Nat. Med.** 23, 1287-1297, 2017.
9. Matsudaira T, Mukai K, (他 11 名), \*Arai H, Taguchi T. Endosomal phosphatidylserine is critical for the YAP signalling pathway in proliferating cells. **Nat. Commun.** 8, 651, 2017.

#### 公募班 (全 122 報中 30 報を記載)

##### K01-1 大場雄介

- 1, Takeuchi Y, (他 13 名), Ohba Y, (他 4 名), Fujita Y. Calcium Wave Promotes Cell Extrusion. **Curr. Biol.** 30:670-681, e6, 2020
- 2, Fujioka Y, (他 18 名), \*Ohba Y. A sialylated voltage-dependent Ca<sup>2+</sup> channel binds hemagglutinin and mediates influenza A virus entry into mammalian cells. **Cell Host. Microbe.** 23, 809-818, 2018.

##### K01-2 泉 正範

- 1, Kikuchi Y, (他 7 名), \*Izumi M. Chloroplast autophagy and ubiquitination combine to manage oxidative damage and starvation responses. **Plant Physiol.** 183, 1531-1544, 2020

##### K01-3 鈴木邦律

- 1, Fujioka Y, (他 7 名), Suzuki K, (他 1 名), \*Noda N. Phase separation organizes the site of autophagosome formation. **Nature** 578, 301-305, 2020.
- 2, Yamasaki A, (他 4 名), Suzuki K, (他 1 名), \*Noda N. Liquidity is a critical determinant for selective autophagy of protein condensates. **Nat. Struct. Mol. Biol.** 26, 281-288, 2019.
- 3, Osawa T, (他 3 名), Suzuki K, (他 2 名), \*Noda N. Atg2 mediates direct lipid transfer between membranes for autophagosome formation. **Mol. Cell** 77, 1163-1175, 2020.

##### K01-4 宮本崇史

- 1, \*Miyamoto T, Matsuzaka T, Shimano H. ROCK1 as a new player in the regulation of hepatic lipogenesis. **J Diabetes Investig.** 10, 1165-1167, 2019

##### K01-5 齋藤伸一郎

- 1, Sato R, (他 2 名), Saitoh SI, (他 12 名), \*Miyake K. Combating herpesvirus encephalitis by potentiating a TLR3-mTORC2 axis. **Nat. Immunol.** 19, 1071-1082, 2018.

K01-6 神吉智丈

- 1, Furukawa K, (他 7 名), \*Kanki T. The PP2A-like Protein Phosphatase Ppg1 and the Far Complex Cooperatively Counteract CK2-Mediated Phosphorylation of Atg32 to Inhibit Mitophagy., **Cell Rep.** 23, 3579-3590, 2018

K01-7 山中宏二

- 1, Sakai S, (他 3 名), \*Yamanaka K. Novel reporters of mitochondria-associated membranes (MAM), MAMtrackers, demonstrate MAM disruption as a common pathological feature in amyotrophic lateral sclerosis. **FASEB J** 35(7) : e21688, 2021

K01-8 菊池章

- 1, Harada T, (他 4 名) Hayashi-Nishino M, Nagai T, Harada A, \*Kikuchi A. Palmitoylated CKAP4 regulates mitochondrial functions through an interaction with VDAC2 at ER-mitochondria contact sites. **J. Cell Sci.** 133: jcs249045, 2020
- 2, Matsumoto S, (他 9 名), Kikuchi A, GREB1 induced by Wnt signaling promotes development of hepatoblastoma by suppressing TGF $\beta$  signaling. **Nat. Commun.**, 10(1), 3882, 2019.

K01-9 小柴琢己

- 1, Hanada Y, (他 4 名), Koshiba T, (他 2 名), Nomura, M. MAVS is energized by Mff which senses mitochondrial energy metabolism via AMPK signaling for acute antiviral immune response. **Nat. Commun.** 11, 5711, 2020.
- 2, Moriyama M, Koshiba T, Ichinohe T. Influenza A virus M2 protein triggers mitochondrial DNA-mediated antiviral immune responses. **Nat. Commun.** 10, 4624, 2019.

K01-10 山本真寿

- 1, Yamaguchi T, (他 2 名), Yamamoto M, (他 8 名), \*Takahashi T. ROR1-CAVIN3 interaction required for caveolae-dependent endocytosis and pro-survival signaling in lung adenocarcinoma. **Oncogene**, 38, 5412, 2019

K01-11 柳 茂

- 1, Aoyagi Y, (他 7 名), Yanagi S, Starczynowski D, Harada H. Mitochondrial Fragmentation Triggers Ineffective Hematopoiesis in Myelodysplastic Syndromes. **Cancer Discov.** 12(1):250, 2021
- 2, Takeda K, (他 11 名), Yanagi S. MITOL prevents ER stress-induced apoptosis by IRE1 $\alpha$  ubiquitylation at ER-mitochondria contact sites. **EMBO J.** 38(15), e100999, 2019

K01-12 潮田亮

- 1, Inoue M, (他 5 名), Ushioda R, (他 4 名), \*Inaba K. Structural basis of sarco/endoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup>-ATPase 2b regulation via transmembrane helix interplay. **Cell Rep.** 27, 1221-1230 (2019)

K01-13 中津史

- 1, Kawasaki A, (他 8 名), \*Nakatsu F. PI4P/PS countertransport by ORP10 at ER-endosome membrane contact sites regulates endosome fission. **J. Cell Biol.** 221(1):e202103141, 2022

K01-14 加藤哲久

- 1, Maeda F, Kato A, (他 13 名), Maruzuru Y, Koyanagi N, Arii J, Kawaguchi Y. Role of the orphan transporter SLC35E1 in the nuclear egress of herpes simplex virus 1. **J. Virol.** 27:e0030622, 2022

K01-15 白根道子

- 1, Shirane M, (他 9 名), Nakayama KI. Protrudin and PDZD8 contribute to neuronal integrity by promoting lipid extraction required for endosome maturation. **Nat. Commun.** 11, 4576, 2020

K01-16 鈴木聡

- 1, Soyama H, (他 13 名), Suzuki A. Hippo-TAZ signaling is the master regulator of the onset of triple negative basal-like breast cancers. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 2022, in press
- 2, Omori H, (他 16 名), Suzuki A. YAP1 is a potent driver of the onset and progression of oral squamous cell carcinoma. **Sci Adv.** 18:6(12):eaay3324. 2020

K01-17 平林祐介

- 1, Justin K. O'Hare, (他 2 名), Hirabayashi Y, (他 7 名), \*Losonczy A, Polleux F. Compartment-specific tuning of dendritic feature selectivity by intracellular Ca<sup>2+</sup> release. **Science**, 375, 6586, 2022

K01-18 樽野陽幸

- 1, Demura K, (他 7 名), \*Taruno A, \*Nureki O. Cryo-EM structures of calcium homeostasis modulator channels in diverse oligomeric assemblies. **Sci Adv.** 6:eaba8105, 2020

K01-19 甲賀大輔

- 1, Koga D, (他 2 名), Watanabe T. Applications of Scanning Electron Microscopy Using Secondary and Backscattered Electron Signals in Neural Structure. **Front Neuroanat.** 15:759804, 2021

K01-20 中山和久

- 1, Zhou Z, (他 3 名), Nakayama K, Katoh Y. Impaired cooperation between IFT74/BBS22-IFT81 and IFT25-IFT27/BBS19 causes Bardet-Biedl syndrome. **Hum. Mol. Genet.** 31, 1681-1693, 2022

K01-21 遠藤斗志也

- 1, Matsumoto S, (他 6 名), Endo T. GET pathway mediates transfer of mislocalized tail-anchored proteins from mitochondria to the ER. **J. Cell Biol.** in press, 2022
- 2, Takeda H, (他 18 名), Wiedemann N, Kikkawa M, Endo T. Mitochondrial sorting and assembly machinery operates by 8-barrel switching. **Nature** 590 (7844), 163-169, 2021
- 3, Tamura T, (他 6 名), Endo T, Umeda M, Hamachi I. Organelle membrane-specific chemical labeling and dynamic imaging in living cells. **Nat Chem Biol.** 16 (12), 1361-1367, 2020

A02-1 森 和俊、片桐豊雅、西頭英起、尾野雅哉、名黒功 (全59報中8報を記載)

- 1, George G, Ninagawa S, Yagi H, (他 11 名), \*Mori K. Purified EDEM3 or EDEM1 alone produces determinant oligosaccharide structures from M8B in mammalian glycoprotein ERAD. **eLife**. 10:e70357, 2021
- 2, Watanabe K, (他 5 名), Naguro I, \*Ichijo H. Cells recognize osmotic stress through liquid-liquid phase separation lubricated with poly(ADP-ribose). **Nat. Commun.** 12, 1353, 2021
- 3, Nakamura T, (他 5 名), Naguro I, \*Ichijo H. The mitochondrial Ca<sup>2+</sup> uptake regulator, MICU1 is involved in cold stress-induced ferroptosis. **EMBO Rep.**, e51532, 2021
- 4, Ninagawa S, (他 14 名), \*Mori K. Antipsychotic olanzapine-induced misfolding of proinsulin in the endoplasmic reticulum accounts for atypical development of diabetes. **eLife**. 9:e60970, 2020
- 5, George G, Ninagawa S, Yagi H, (他 8 名), \*Mori K. EDEM2 stably disulfide-bonded to TXNDC11 catalyzes the first mannose trimming step in mammalian glycoprotein ERAD. **eLife**. 9:e53455, 2020
- 6, Kato H, (他 9 名), Ono M, (他 4 名), Shimizu S, (他 3 名), \*Nishitoh H. ER-resident sensor PERK is essential for mitochondrial thermogenesis in brown adipose tissue. **Life Sci. Alliance** 3:e201900576, 2020
- 7, Tsuburaya N, (他 16 名), Naguro I, (他 3 名), \*Ichijo H. A small-molecule inhibitor of SOD1-Derlin-1 interaction ameliorates pathology in an ALS mouse model. **Nat. Commun.** 9, 2668, 2018.
- 8, Daizumoto K, (他 4 名), Ono M, (他 2 名), \*Katagiri T. A DDX31/mutant-p53/EGFR axis promotes multistep progression of muscle invasive bladder cancer. **Cancer Res.** 78:2233-2247, 2018.

A02-2 中野明彦、黒川量雄 (全32報中11報を記載)

- 1, Rodriguez-Gallardo S, (他 9 名), Nakano A, Kurokawa K, Muñoz M, \*Funato K. Quality-controlled lipid-based protein sorting into selective ER exit sites. **Cell Rep.** 39:110768, 2022.
- 2, Hasegawa Y, (他 12 名), Nakano A, (他 3 名), \*Sato T. TGN/EE SNARE protein SYP61 and ubiquitin ligase ATL31 cooperatively regulate carbon/nitrogen-nutrient responses in Arabidopsis. **Plant Cell** 34:1354-1374, 2022.
- 3, Shimizu Y, (他 9 名), Kurokawa K, Uemura T, \*Nakano A. Cargo sorting zones in the *trans*-Golgi network visualized by super-resolution confocal live imaging microscopy in plants. **Nat. Commun.** 12:1901, 2021.
- 4, Rizzo R, Russo D, Kurokawa K, (他 24 名), Nakano A, (他 2 名), \*Luini A. Golgi maturation-dependent glycoenzyme recycling controls glycosphingolipid biosynthesis and cell growth via GOLPH3. **EMBO J.** 40:e107238, 2021.
- 5, Kanazawa T, (他 8 名), Nakano A, \*Ueda T. The liverwort oil body is formed by redirection of the secretory pathway. **Nat. Commun.** 11:6152, 2020.
- 6, Rodriguez-Gallardo S, \*Kurokawa K, (他 13 名), Nakano A, \*Muñoz M. Ceramide chain length-dependent protein sorting into selective endoplasmic reticulum exit sites. **Sci. Adv.** 6:eaba8237, 2020.
- 7, Shimada TL, (他 8 名), Nakano A, Ueda T, Takano Y, \*Hara-Nishimura I. HIGH STEROL ESTER 1 is a key factor in plant sterol homeostasis. **Nat. Plants** 5:1154-1166, 2019.
- 8, Tojima T, (他 2 名), Kurokawa K, \*Nakano A. Spatiotemporal dissection of the *trans*-Golgi network in budding yeast. **J. Cell Sci.** 132:jcs231159, 2019.
- 9, \*Kurokawa K, (他 5 名), \*Nakano A. Visualization of secretory cargo transport within the Golgi apparatus in living yeast cells. **J. Cell Biol.** 218:1602-1618, 2019.
- 10, Uemura T, (他 8 名), \*Schulze-Lefert P, Nakano A. A Golgi-released subpopulation of the *trans*-Golgi network mediates protein secretion in Arabidopsis. **Plant Physiol.** 179:519-532, 2019.
- 11, \*Ito E, (他 4 名), Uemura T, Nakano A, \*Ueda T. Integration of two RAB5 groups during endosomal transport in plants. **eLife** 7:e34064, 2018.

A02-3 後藤聡、石川裕之、金川基 (全32報中7報を記載)

- 1, Tokuoka H, (他 10 名), \*Kanagawa M, \*Toda T. CDP-ribitol prodrug treatment ameliorates ISPD-deficient muscular dystrophy mouse model. **Nat. Commun.** 13, 1847, 2022
- 2, Kawaguchi K, (他 3 名), \*Goto S. Hrd1-dependent degradation of the unassembled PIGK subunit of the GPI transamidase complex. **Cell Struct. Funct.**, 46, 65-71, 2021
- 3, Morioka S, (他 3 名), Kanagawa M, (他 4 名), \*Ueyama T. Congenital hearing impairment associated with peripheral cochlear nerve dysmyelination in glycosylation-deficient muscular dystrophy. **PLoS Genet.** 16(5):e1008826, 2020
- 4, Kuwabara N, (他 5 名), Kanagawa M, (他 4 名), \*Kato R. Crystal structures of fukutin-related protein (FKRP), a ribitol-phosphate transferase related to muscular dystrophy. **Nat Commun** 11:303, 2020
- 5, Ujihara Y, Kanagawa M, (他 5 名), \*Katanosaka Y. Elimination of Fukutin reveals cellular and molecular pathomechanisms in muscular dystrophy-associated heart failure. **Nat Commun** 10:5754, 2019
- 6, Orlandi C, (他 7 名), Kanagawa M, Furukawa T, \*Martemyanov KA. Transsynaptic binding of orphan receptor GPR179 to dystroglycan-pikachurin complex is essential for the synaptic organization of photoreceptors. **Cell Rep.** 25, 130-145, 2018.
- 7, Tsuchiya M, \*Hara Y, (他 12 名), Kanagawa M, (他 5 名), \*Umeda M. Cell surface flip-flop of phosphatidylserine is critical for PIEZO1-mediated myotube formation. **Nat. Commun.** 9, 2049, 2018.

A02-4 原田彰宏、木下タロウ、西野美都子 (全62報中9報を記載)

- 1, Wang Y, (他 9 名), \*T. Kinoshita T. Genome-wide CRISPR screen reveals CLPTM1L as a lipid scramblase required for efficient glycosylphosphatidylinositol biosynthesis. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA press**, 2022

- 2, Kunii M, (他 9 名), \*Harada A. SNAP23 deficiency causes severe brain dysplasia through the loss of radial glial cell polarity. **J. Cell Biol.** 220 (1): e201910080, 2021
- 3, Wang Y, (他 7 名), \*Kinoshita T. Cross-talks of glycosylphosphatidylinositol biosynthesis with glycosphingolipid biosynthesis and ER-associated degradation. **Nat. Commun.**, 11:860, 2020
- 4, Hoechsmann B, (他 19 名), \*Kinoshita T. Complement and inflammasome overactivation mediates paroxysmal nocturnal hemoglobinuria with autoinflammation. **J. Clin. Invest.** 129(12):5123-5136, 2019
- 5, Venditti R, (他 7 名), Harada A, (他 3 名). The activity of Sac1 across ER-TGN contact sites requires the four-phosphate-adaptor-protein-1. **J. Cell Biol.** 218: 783-797, 2019.
- 6, Eguchi T, (他 6 名), Harada A, (他 3 名). LRRK2 and its substrate Rab GTPases are sequentially targeted onto stressed lysosomes and maintain their homeostasis. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.** 115:E9115-9124, 2018
- 7, Sobajima T, (他 4 名), \*Harada A. The Rab11-binding protein RELCH/KIAA1468 controls intracellular cholesterol distribution. **J. Cell Biol.** 217, 1777-1796, 2018
- 8, Hirata T, (他 10 名), \*Kinoshita T. Identification of a Golgi GPI-N-acetylgalactosamine transferase with tandem transmembrane regions in the catalytic domain. **Nat. Commun.** 9, 405, 2018
- 9, Liu Y-S, (他 8 名), \*Kinoshita T, \*Fujita M. N-Glycan dependent protein folding and endoplasmic reticulum retention regulate GPI-anchor processing. **J. Cell Biol.** 217, 585-599, 2017

公募班 (全63報中12報を記載)

K02-1 鈴木利治

1. Gotoh N, (他9名), \*Suzuki T, \*Yamamoto T. Amyloidogenic processing of amyloid  $\beta$  prptein precursor (APP) is enriched in the brain of alcadein  $\alpha$ -deficient mice. **J. Biol. Chem.** 295, 9650-9662, 2020

K02-2 植村知博

- 1, Uemura T, (他 10 名). A Golgi-released subpopulation of the trans-Golgi network mediates protein secretion in Arabidopsis. **Plant Physiol.**, 179:519-532, 2019.

K02-3 顧 建国

- 1, Song W, (他 4 名), Gu J. O-GlcNAcylation Regulates  $\beta$ 1,4-GlcNAc-branched N-glycan Biosynthesis Via the OGT/SLC35A3/GnT-IV Axis. **FASEB J.**, 36: e22149, 2022

K02-4 深田 正紀

- 1, Kreye J, (他26名), Fukata M, Prüss H. Encephalitis patient-derived monoclonal GABA<sub>A</sub> receptor antibodies cause epileptic seizures. **J. Exp. Med.** 218:e20210012, 2021
- 2 Chen X, Fukata Y, Fukata M, Nicoll R. MAGUKs are essential, but redundant, in long-term potentiation. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.** 118:e2107585118, 2021
- 3, Fukata Y, (他14名), Fukata M. LGI1-ADAM22-MAGUK configures trans-synaptic nanoalignment for synaptic transmission and epilepsy prevention. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.** 118:e2022580118, 2021
- 4, Yoshida T, (他14名), Fukata M, (他9名), Fukai S. Canonical versus non-canonical transsynaptic signaling of neuroligin 3 tunes development of sociality in mice. **Nat Commun.** 12:1848, 2021
- 5, Boncompain G, (他7名), Fukata M, Brelot A, Niedergang F, Perez F. Targeting CCR5 trafficking to inhibit HIV-1 infection. **Sci Adv.** 5:eaax0821, 2019
- 6, Cao Y, (他4名), Fukata M, Rice P, Dickinson BC. ABHD10 is an S-depalmitoylase affecting redox homeostasis through peroxiredoxin-5. **Nat. Chem. Biol.** 15:1232-1240, 2019
- 7, Yamagata A, (他 11 名), \*Fukata M, \*Fukai S. Structural basis of epilepsy-related ligand-receptor complex LGI1-ADAM22. **Nat Commun.** 1546, 2018.

K02-5 立川正志

- 1, Hanawa-Suetsugu K, (他 6 名), Tachikawa M, (他 5 名), \*Suetsugu S. Phagocytosis is mediated by two-dimensional assemblies of the F-BAR protein GAS7. **Nat. Commun.** 10, 4763, 2019

K02-6 齋藤康太

- 1, Maeda M, Komatsu Y, \*Saito K. Mitotic ER exit site disassembly and reassembly are regulated by the phosphorylation status of TANGO1. **Dev. Cell**, 55 (2), 237-250, 2020

【総説、著書】(全 13 報中 5 報を記載)

1. \*Nakano A. The Golgi apparatus and its next-door neighbors. **Frontiers Cell Dev. Biol.** 10:884360, 2022.
2. \*Shimizu S. Organelle zones in mitochondria **J. Biochem.** 165, 101-107. 2019
3. \*Kurokawa K, Nakano A. The ER exit sites are specialized ER zones for the transport of cargo proteins from the ER to the Golgi apparatus. **J. Biochem.** 165,109-114, 2019.
4. \*Nakano A, von Blume J. Organelle zones. **Mol. Biol. Cell** 30, 731, 2019.
5. \*Nishitoh H. Paradigm shift from "Compartment" to "Zone" in the understanding of organelles. **J. Biochem.** 165, 97-99, 2019.

【ホームページ、国際シンポジウム (主催)】

- 1, 領域ホームページ(<https://www.tmd.ac.jp/organellezone/outline/index.html>)
- 2, SFB1190 Minisymposium "Organelle zones meet compartmental gates and contact sites" Max Planck Inc. 2019.05.02Göttingen Germany
- 3, Organelle zone International Symposium 2019.05.29 Osaka, Japan



## 8 研究組織の連携体制

研究領域全体を通じ、本研究領域内の研究項目間、計画研究及び公募研究間の連携体制について、図表などを用いて具体的かつ簡潔に1頁以内で記述すること。

本研究領域は1つの総括班、9つの計画班、公募班（前半19班、後半17班）より構成された（下図）。本領域が掲げる目標は、細胞の様々な様態におけるオルガネラ・ゾーン動態を解析し、その生物学的な役割を明らかにすることである。この目的のために、各オルガネラの専門家、細胞反応をオルガネラから捉える研究者に加え、分子イメージング、ケミカルバイオロジー、糖鎖解析のエキスパートなどを融合することにより、研究者間の有機的連携を図り、研究領域全体の目標達成と発展を目指した。



共同研究の推進・領域の発展には、公募班も含めてオルガネラ・ゾーン解析レベルを高精度均一化することが必要であると考え、最先端技術を利用できる研究プラットフォームを整備した。具体的には、総括班内に**技術支援部門**を設置した。この部門では、世界最先端の技術である SCLIM イメージング、超解像イメージング、電子顕微鏡解析、プロテオーム解析、糖鎖解析、脂質解析、siRNA ライブラリースクリーニング、CRISPR による変異細胞群作成支援等を提供した。

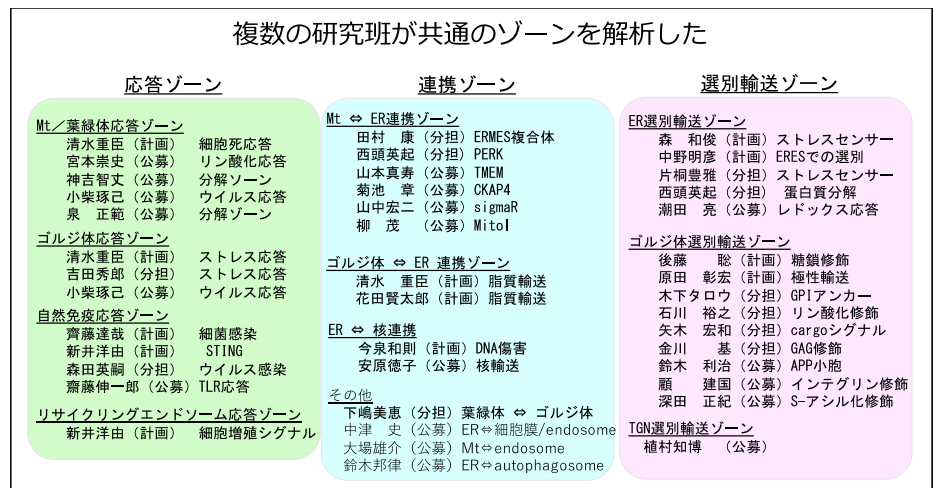
また、領域内連携を進めるためには、お互いの研究の成果や研究手法、研究資材を知る必要がある。このために、総括班内に、領域全体の運営・進捗管理を行う**事務部門**を設置した。事務部門では、情報共有の場の提供、情報発信、自己点検評価、若手研究者の育成、アウトリーチ活動などを行っている。これらの成果として、研究組織間の関係が進み、右図に示すように、毎年 56~62 件の共同研究が行われた（右表）。

|       | R3 | R2 | R1 | H30 |
|-------|----|----|----|-----|
| 総括一総括 | 31 | 48 | 29 | 32  |
| 総括一分担 | 15 | 10 | 22 | 20  |
| 分担一分担 | 10 | 4  | 10 | 4   |
| 総計    | 56 | 62 | 61 | 56  |

また、本領域では、複数のオルガネラを対象に様々なゾーン研究を行なっているが、複数の研究者が参画しているゾーンも多く存在する（右下図）。このような場合は、互いのデータを照会することで有機的な連携が図られた。例えば、ミトコンドリア⇔小胞体連携ゾーンに関しては、

各々異なった立場から6名の研究者が解析を行ったが、

「自らの解析系で、他の5名の研究者の解析結果は、どのように位置付けられるか」ということを互いにフィードバックして領域内の研究を発展させた。興味深いことに CKAP4, sigmaR, TMEM などの分子は、全ての班でゾーン構成分子として同定され、高いオリティで共同研究が進められたものと考えている。



## 9 研究費の使用状況

研究領域全体を通じ、研究費の使用状況や効果的使用の工夫、設備等（本研究領域内で共用する設備・装置の購入・開発・運用、実験資料・資材の提供など）の活用状況について、総括班研究課題の活動状況と併せて具体的かつ簡潔に2頁以内で記述すること。また、領域設定期間最終年度の繰越しが承認された計画研究（総括班・国際活動支援班を含む。）がある場合は、その内容を記述すること。

本領域では、全ての班員が、世界トップレベルの研究環境の中で研究を行えるよう、技術支援部門を置き、SCLIMなどの解析技術を提供した。以下に記載する技術支援のために、総括班経費を配分した。

### 技術支援部門

- 1. SCLIM解析**（担当：中野）：2017年：1件、2018年：6件、2019年：4件、2020年：4件、2021年：6件。  
中野らが開発した高速超解像顕微鏡 SCLIM (Super-resolution Confocal Live Imaging Microscopy) はオルガネラの詳細な構造とダイナミクスを解析する上で、極めて有効な顕微鏡である。SCLIM1 モデルを班員が共同で利用できるように、SCLIM 解析を支援するための人件費を計上した。ゴルジ体ストレス応答ゾーン、Mt⇔ER 連携ゾーン、小胞体やゴルジ体の選別輸送ゾーン、ERES 選別輸送ゾーンなどの解析を支援した。
- 2. 超解像顕微鏡解析**（担当：加藤）：2017年：2件、2018年：4件、2019年：5件、2020年：5件、2021年：5件。  
SCLIMと同様に、オルガネラの詳細な構造を解析する上で、極めて有効な手法である。複数の超解像顕微鏡を班員が共同で利用できるように、オルガネラ観察に合わせたレンズを総括班経費で購入するなど、研究費を補填した。2017年度に『誘導放出抑制 (STED) 顕微鏡用対物レンズ』を導入し、厚みのある試料のSTED観察に対応した。また、『超解像・高速共焦点レーザー顕微鏡システム用CMOSカメラ』、『倒立顕微鏡用イメージスプリッティング光学系』、『倒立顕微鏡 (ニコンTiE) 用デュアルDMフィルターキューブ』を導入した。これらの機器を組みあわせて、超解像顕微鏡 (SIM) を2カメラ対応にアップグレードした。また班員が共同利用できるように人件費を計上した。ゴルジ体ストレス応答ゾーン、Mt⇔ER連携ゾーン、複製オルガネラ⇔Mt連携ゾーン、ER⇔ゴルジ体連携ゾーンなどの解析を支援した。
- 3. 電子顕微鏡解析**（担当：西野、原田、清水）：2017年：2件、2018年：3件、2019年：6件、2020年：6件、2021年：2件。  
オルガネラの形態を、透過型電子顕微鏡や電子顕微鏡トモグラフィーを用いて観察する支援を領域内で行っている。担当者が依頼者の研究室に出向する旅費を負担するなどして、固定から解析までの一連の作業を支援している。ゴルジ体自然免疫応答ゾーン、細胞膜上のサイトカイン放出応答ゾーン、損傷リソソーム応答ゾーン、核⇔ER連携ゾーンなどの解析を支援した。
- 4. ショットガンプロテオミクス解析**（担当：尾野）：2017年：6件、2018年：8件、2019年：9件、2020年：11件、2021年：12件。  
オルガネラ・ゾーン関連分子を同定するための方法として、プロテオミクスは強力なツールであり、この解析にかかる経費を支出した。ゴルジ体ストレス応答ゾーン、Mt⇔ER連携ゾーン、核⇔ER連携ゾーン、ER⇔ゴルジ体連携ゾーンなどの解析を支援した。
- 5. siRNAライブラリースクリーニング**（担当：名黒）：2018年：4件、2019年：6件、2020年：4件、2021年：4件。  
オルガネラ・ゾーン関連分子を同定するためには、網羅的siRNAによるスクリーニングは有効なツールとなる。この技術を領域で共有するために、validationの技術支援等にかかる経費を支出した。ゴルジ体転写応答ゾーン、核⇔ER連携ゾーン、小胞体選別輸送ゾーンなどの解析を支援した。
- 6. 糖鎖分析**（担当：矢木）：2017年：1件、2018年：3件、2019年：2件、2021年：3件。  
質量分析および高速液体クロマトグラフィーを利用した糖鎖の構造解析を支援した。特に、オルガネラのゾーン形成関わる遺伝子を欠損した細胞やゾーン形成を阻害する薬剤を添加した細胞に発現している糖鎖のプロファイリングを支援した。小胞体選別輸送ゾーン、ゴルジ体ストレス応答ゾーンなどの解析を支援した。
- 7. 遺伝子候補のゲノムワイドスクリーニング**（担当：花田）：2018年：2件、2019年：3件、2022年：3件。  
総括班経費で準備・提供したゲノムワイド変異導入 HeLa 細胞変異株ライブラリーを利用して、ゲノムワイドスクリーニング系を提供した。ゴルジ体転写応答ゾーンを中心にゲノムワイドスクリーニングを行った。



このように本研究領域では、種々の特殊な解析技術を領域全体で共有することにより、研究費の効果的な使用のみならず共同研究の推進にも役立つ活動を行っている。これらの研究支援活動に関しては、評価者全員から高い評価を受けている。

### **国際活動支援**

若手研究者の国際会議参加（7件）および海外研究者の受入（4件）に関して支援を行った。若手研究者が米国細胞生物学会などに参加しオルガネラ研究成果を発表した。また米国エール大学などから海外研究者を招聘しセミナーを開催するなど積極的にオルガネラ・ゾーン研究の情報入手と発信に努めた。なお、2020年以降はCOVID-19の影響で海外派遣および招聘を中止した。（担当：今泉）

### **領域設定期間最終年度の繰越しが承認された計画研究**

計画研究班「小胞体膜連携ゾーンを介した脂質輸送」（計画班代表：国立感染症研究所・花田賢太郎）

小胞体とゴルジ体もしくは葉緑体との間の機能連携およびその制御の分子機序を脂質輸送の観点から研究している。令和3年度（2021年度）の実施計画中、花田グループ担当分がコロナ事由により当初の計画通りに進められず、令和4年10月31日までの繰越し申請（繰越し申請額は、消耗品及び論文投稿費用を中心とした275万円）をして認められた。花田グループでは、令和3年度内において、CERTを小胞体ーゴルジ体連携ゾーンで適切に機能させることに関わる遺伝子群（*PI4KB, ACBD3, C10orf76*）の解析を進め、CERTのゴルジ体局在化に必要なホスファチジルイノシトール4-リン酸が豊富なゾーンの形成機構の一端を明らかにした。この間、当計画班の加藤分担者との連携により、STED顕微鏡においてゴルジ体のcis、trans領域を分離して観察できる条件を見出した。また、CERTのserine repeat motifの多重リン酸化を介してCERT機能抑制に関与するカゼインキナーゼ1 $\gamma$ 群に共通する活性調節機構を解明した。一方で、小胞体膜タンパク質VAPとの結合を高めるCERT S315のリン酸化亢進により小胞体との結合を増強するだけではCERTは小胞体-ゴルジ体連携ゾーンにリクルートされるわけではないことも明らかにした。繰越し期間中に、これらの成果を複数の英文原著論文として取りまとめ投稿し、適宜追加実験などを実施しつつ、採択まで至る予定である。

なお、上述した成果の2項目は、以下のように論文採択または上梓された。

1. Shimasaki K, Kumagai K, Sakai S, Yamaji T, Hanada K (2022) Hyperosmotic stress induces phosphorylation of CERT and enhances its tethering throughout the endoplasmic reticulum, *Int J Mol Sci*, 23, article 4025.
2. Goto A, Sakai S, Mizuike A, Yamaji T, Hanada K (2022) Compartmentalization of casein kinase 1 $\gamma$  CSNK1G controls the intracellular trafficking of ceramide, *iScience*, in press.

計画研究班「膜脂質を基軸としたオルガネラ連携ゾーンの解明」（計画班代表：東京大学・新井洋由）

オルガネラ・ゾーンを膜脂質ドメインという観点から解析し、各オルガネラの特徴的な脂質から成るゾーンの形成機構及びその細胞生物学的意義を研究している。令和3年度（2021年度）の実施計画中、河野グループ担当分が研究棟内の実験室で発生した大規模な火災により機器が消失したため、当初の計画通りに進められず、令和4年8月31日までの繰越し申請（繰越し申請額は、消耗品を中心とした400万円）として認められた。河野グループでは、令和3年度内において、小胞体ーミトコンドリア連携ゾーンに存在する飽和型カルジオリピン（TPCL）が減少した精子細胞でCullin3関連分子の動態を詳細に解析した結果、Cullin3の活性化に関わるKlhl10、Dcn11が小胞体ーミトコンドリア連携ゾーンから減少することを見出している。繰越し期間中に、TPCLとKlhl10、Dcn11の相互作用解析をおこない、TPCLゾーンによるCullin3活性化機構を明らかにする予定である。

総括班「細胞機能を司るオルガネラ・ゾーンの解明」（総括班代表：東京医科歯科大学・清水重臣）

新型コロナウイルス感染症のため、予定していた国際シンポジウムを開催することができなくなった。また、これに伴って、成果の取りまとめも延期せざるを得なくなった。このため、令和5年3月31日までの繰越し申請（繰越し申請額は、直接経費として350万円）として認められた。主な使用用途は、国際会議開催に伴う、会場費、旅費、宿泊費、成果取りまとめに伴う消耗品を予定している。

## 10 当該学問分野及び関連学問分野への貢献の状況

研究領域全体を通じ、本研究領域の成果が当該学問分野や関連学問分野に与えたインパクトや波及効果などについて、「革新的・創造的な学術研究の発展」の観点から、具体的かつ簡潔に1頁以内で記述すること。なお、記述に当たっては、応募時に「①既存の学問分野の枠に収まらない新興・融合領域の創成を目指すもの」、「②当該領域の各分野発展・飛躍的な展開を目指すもの」のどちらを選択したか、また、どの程度達成できたかを明確にすること。

本提案は、「②当該領域の格段の発展・飛躍的な展開を目指すもの」に該当すると判断した

オルガネラは膜で仕切られ、そこに一定の機能を有する蛋白質を集約することで、細胞機能の一部を分担している。しかしながら、個々のオルガネラを丸ごと解析する従来の解析法は大きく転換すべきである。本領域では、各オルガネラ・ゾーンにおける素反応の集積としてのオルガネラ機能という新たなオルガネラバイオロジーを創出することを目指した。

具体的には、以下の成果を得た。

第1には、これまでのオルガネラ研究ではあまり対象とされなかったオルガネラ間の連携を明らかにすることによって、オルガネラが持つ新たな機能を発掘した。具体的には、オルガネラゾーン研究が始まる前までは、小胞輸送を介さないオルガネラ間における脂質輸送機構がほとんど不明であったが、本領域の研究によって、連携ゾーンがオルガネラ間の脂質輸送の場として機能することが証明された。この成果を皮切りに、世界中で脂質輸送における連携ゾーンの役割の解明が進み、現在では、連携ゾーンが脂質輸送の場であるという明確なコンセンサスが得られている。また、一部のオルガネラだけに連携ゾーンが存在するのではなく、ほとんどのオルガネラが異なるオルガネラと接触し、お互いに情報交換をしていることを明らかにすることができた。さらにはこの連携ゾーンが、細胞ストレスに応答して、ダイナミックにその数や程度を調節することで、オルガネラの機能を最適化し、細胞ストレス応答にも関与することもわかりつつある。即ち、オルガネラは個々に独立して細胞機能を調節しているという概念を排除し、1つのオルガネラは連携ゾーンを使って他のオルガネラと連携し、細胞機能を調節しているというパラダイムを確立した。

第2には、小胞体やゴルジ体を複数の選別輸送ゾーンの集合体として捉えた点である。これまで、細胞内の蛋白質輸送は「1本のベルトコンベアー上を流れるように運ばれて順次修飾が行われ、目的地まで輸送される」といった単線のイメージで捉えられてきた。だが、このモデルでは、小胞体、ゴルジ体で多彩な蛋白質が同時に様々な修飾を受け、異なる場所に輸送されている事実をうまく説明できなかった。本領域の研究成果により、小胞体やゴルジ体内に存在する複数の選別輸送ゾーンの存在並びに、その役割を解明することができた。これらの成果により、蛋白質修飾・輸送経路が複線で構成されているというパラダイムシフトをもたらすことに成功し、700以上もの蛋白質が、非常に多様な修飾の中から適切な修飾が施されるメカニズムを明らかにすることができた。

第3には、本領域で解析した複数のオルガネラゾーンにおいて、その異常によるヒト疾患が見出されていることである。これは、該当するオルガネラゾーンの生物学的重要性を示しているが、また同時に、オルガネラゾーンの解析で得られた知見を疾患研究、創薬に発展させることができることを示している。実際に、ゴルジ体タンパク質分解応答ゾーンや ER⇔ゴルジ体連携ゾーンでは、創薬開発研究も進んでおり、今後オルガネラゾーンの医学への応用が広がることが期待される。

これら3つの点から、本領域は細胞生物学に格段の発展と飛躍的な展開をもたらした。

## 11 若手研究者の育成に関する取組実績

研究領域全体を通じ、本研究領域の研究遂行に携わった若手研究者（令和4年3月末現在で39歳以下。研究協力者やポスドク、途中で追加・削除した者を含む。）の育成に係る取組の実績について、具体的かつ簡潔に1頁以内で記述すること。

本領域を発展させるために、多くの若手研究者の研究力を強化し、より上位のポストへのプロモーションを促す施策を実施した。具体的には、①独立研究者を目指す研究者を対象とした**オルガネラゾーン研究会**、②大学院生やポスドクを対象とした**オルガネラゾーン若手の会**、③若手研究者向けの**国際交流支援**を行なった。

### ①オルガネラ・ゾーン研究会

教授クラスを目指す研究者の発表スキルを高め、能力・成果をアピールする場として、教授クラスを目指す領域内研究者と領域外の教授クラスの研究者が共に参加するオルガネラ・ゾーン研究会を開催した。第1回は、2018年3月に東京医科歯科大学で開催し、領域外の教授4名にご講演いただいた。第2回は、2018年12月に東京医科歯科大学で開催し、領域外の教授4名にご講演いただいた。第3回は、2019年11月に東京大学で開催し、領域外の教授2名にご講演いただいた。本会では、十分な時間をかけてプレゼンテーションと質疑応答を行い、中身の濃い議論が交わされた。本会での発表後に、プロモーションを果たした若手も出た。

### ②オルガネラ・ゾーン若手の会

若手の研究モチベーションを高めて新しい研究の萌芽につなげること、また、将来的な無形財産となる人的ネットワーク形成の場を提供することを目指して、オルガネラ・ゾーン若手の会を開催した。現場で実際に手を動かし研究を推進している若手（助教、ポスドク、大学院生ら）がプレリミナリーなデータを含めて発表し、積極的に意見を交わした。会の企画・運営も若手の研究者に委ねた。第1回は、2019年1月に四国大学交流プラザで開催した。特別講師に水島昇博士をお迎えした。第2回は、2019年11月に東京医科歯科大学で開催した。特別講師に福田光則博士をお迎えした。第3回は、2020年12月にオンライン形式で開催した。第4回は、2022年3月に中野サンプラザで開催した。特別講師に佐藤直樹博士をお迎えした。いずれの会においても、活発な議論が行われ、優れた発表を行った若手を表彰した。

### ③国際交流支援

若手研究者が最新の研究に触れ、国際交流を深める機会を創出するために、海外で開催される学会への参加費を支援した（2017年度2名、2018年度3名、2019年度2名）。また、2021年12月には、若手研究者のネットワーク形成を目的とした交流会をオンライン形式で開催した。海外で独立した日本人若手PIとしてKatsu Funai博士を講師に迎え、最新の研究成果に加えて、海外で独立し研究室を運営するノウハウなどについてお話しいただいた。講演の後も、Funai博士を中心に、若手研究者や若手PIが積極的に意見を交換した。さらに、オルガネラ研究分野の第一人者や気鋭の若手研究者を講師として招待し、2021年8月から2022年3月までに、計8回のOrganelle Zoon Seminarをオンライン形式で開催した。なお、本セミナーは、領域内外からの要望もあり、2022年4月以降も月1回以上の頻度で定期開催している。

### ④その他の活動

・若手プロモーションに関する意見交換会を行った（2018年12月：東京医科歯科大学）。学部の教授、附属研究所の教授、国の研究機関のチームリーダーが講師となり、プロモーションに関するアドバイスをを行った。

- ・総括班予算で、ニコンから顕微鏡を借り、初心者向けの顕微鏡講習会を2019年に産総研で開催した。
- ・多くの若手研究者が研究成果を評価されて受賞した。代表例を以下に示す。

森班の研究協力者である蜷川暁博士が、日本生化学会奨励賞および日本糖質学会奨励賞を受賞した。

公募班の泉正範博士が、科学技術分野の文部科学大臣表彰 若手科学者賞を受賞した。

### ⑤若手研究者のプロモーション（代表例）

- ・清水班の研究分担者である田村康博士が、山形大学理学部の教授に昇任した。
- ・清水班講師の荒川聡子博士が、東京医科歯科大学の教授に昇任した。
- ・後藤班の分担研究者である金川基博士が、愛媛大学医学部の教授に昇任した。
- ・今泉班の分担研究者である金子雅幸博士が、長崎大学薬学部の教授に昇任した。
- ・齊藤班の連携研究者である王静博士が、上海交通大学医学院上海市免疫学研究所において Principal Investigatorとして独立した。
- ・公募班の潮田亮博士が、京都産業大学生命科学部の准教授として独立した。

## 12 総括班評価者による評価

研究領域全体を通じ、総括班評価者による評価体制（総括班評価者の氏名や所属等）や本研究領域に対する評価コメントについて、具体的かつ簡潔に2頁以内で記述すること。

### 評価者：藤木幸夫（九州大学）

本領域は、細胞内の各オルガネラの中に存在する機能領域「オルガネラ・ゾーン」の概念をより具体的に捉え、応答ゾーン、連携ゾーン、選別輸送ゾーンに分類し、その分子実態や生物学的な役割の解明を領域課題とした。具体的な到達目標を、1) 各ゾーンを精密に観察し、2) ゾーンを構成する分子の同定や形成機構を明らかにし、3) 各ゾーンの生理的役割を明らかにする、さらに4) 未知のオルガネラ・ゾーンを同定すると定め、鋭意取り組んだ。その成果としては、オルガネラそのものの動態解析からオルガネラ・ゾーンの解析に一段階深めるなど、オルガネラ・ゾーンという概念が確立されたことで独創性の高い学術領域が創成されたと高く評価できる。従って本領域の推進と成果は、オルガネラの役割をよりミクロの立場から定義し直すものであり、生命現象の根幹に迫ることができる。すなわち、本領域の成果、換言すれば「オルガネラ・ゾーンの生物学」は生命科学の幅広い分野（基礎生物学から医学研究に至るまで）に波及し、我が国の学術水準を飛躍的に向上させるものと十分に期待される。このように非常に高く評価される本領域研究は、その関連分野との広がりも含めて、継続性さらには大きく発展させる研究分野の創設が望まれる。「オルガネラ・ゾーンの生物学」研究の重要性も、一級国際誌への研究成果の公表をはじめ国際的認知度が高まったと判断され、そのための諸活動も評価される。若手研究者育成策として、オルガネラ・ゾーン研究会、若手企画ワークショップ等、着実にその成果を挙げたと判断される。ただ、国際交流や海外派遣は、主としてコロナ禍のため実施が大きく阻まれとことは非常に残念である。その分は延期となっている本領域国際シンポジウムの実施が計画されており、ゾーン研究の成果を多くの一流海外研究者との交流と議論により、今後の展望と方向性へも期待したい。

### 評価者：河野憲二（兵庫県立大学）

本学術領域研究は、オルガネラ内に機能的に異なった役割を担う部位があり、そこを大変魅惑的な言葉である「ゾーン」と名付け、ゾーンの生理的役割を分子レベルで明らかにし、オルガネラ機能を各ゾーンの集大成として見直すという、全く新しい視点に立ったオルガネラ研究である。成果の1つとして、超解像顕微鏡 SCLIM を用いることにより小胞体における異なる ERES ゾーンが同定された研究（中野班）をあげることができる。この成果はすでに論文として発表されているが、この論文中には zone という言葉が使われており、この研究領域が順調に進んできたことを象徴している。もちろんこれだけに留まらず、ミトコンドリア、小胞体、ゴルジ体、核などのオルガネラに応答・連携・選別輸送の新しい生理機能領域がゾーンとして同定され、その構成分子が明らかにされてきていることは喜ばしいことである。今後これらの成果をなるべく早く論文として発表し、オルガネラゾーンという概念を世界に発信、定着させて欲しい。また、本研究領域は、ショットガンプロテオミクスをはじめとし、SCLIM 等を用いた超解像顕微鏡支援、電子顕微鏡支援など1つのラボでは不可能な高度な分析技術を技術支援として設定し、発展させてきた点は特筆に値する。これらの支援により個々のプロジェクトが飛躍的に発展することができたと思われる。残念であったことは、研究機関の後半の2年間が新型コロナ禍のため、班会議もオンラインで行わざるを得なくなったことである。特に国際シンポジウムを始めとし、海外のラボとの研究交流が制限されたことは、若手研究者の育成や研究の発展にマイナスに働いたことは否めない。しかしオンラインのやり取りは、場所・時差の違いを超え、どこでも、いつでも気軽に連絡を取り合うことができる機会を与えた。本研究班はこれを利用し、オルガネラゾーンセミナーを毎月一度開いており、外部研究者

(外国人研究者も含む)による研究を聞けるようにしたことは評価に値する。同時に班会議の直前に若手だけの発表会も開いており、若手研究者にとっては情報を交換する良い機会となったであろう。繰り返しになるが、ゾーンという新しい概念を定着させ、この分野を発展させるために、これまでの成果をなるべく早く journal に発表していくことを班員の方々にはお願いしたい。それがひいては、この分野の発展のためだけでなく、日本のサイエンスを引き上げることに大きく貢献するはずである。

**評価者：三浦正幸（東京大学）**

生体膜によって囲まれたオルガネラ区画は、そのコンタクトサイトによる接着によって機能的な連携をしたり、同じオルガネラでありながら膜の変形や小胞形成によって様々に機能分化している。動的なオルガネラの振る舞いをゾーンとして捉えることで、この5年間で新しい視点から個々のオルガネラや、オルガネラ間の機能連関の理解が進んだ。動的なオルガネラ研究に必須の超高速・高解像度の生体イメージング技術 SCLIM や、超解像顕微鏡、3次元での電子顕微鏡観察技術の開発が進み、これらの技術に多くの研究者がアクセスできた。また、プロテオミクス解析や遺伝子スクリーニングなど技術支援の充実が研究者間の交流を促進し共同研究が多く生まれた。これら共同研究の中からゾーン制御に関わる分子の同定や、ゾーンに関わる新たな生理機能の発見があり刺激の多い研究領域であった。昨今は対面での国際的な研究交流が復活してきたこともあり、Organelle Zone の考え方とそれに基づく成果を国際的にさらに発信し、浸透させていくステージに入ったと思われる。コロナ禍では領域会議が難しかったが、オンラインもうまく活用し、研究者同士の交流や情報交換を途切れることなく行なってきた。さらに Organelle Zone Seminar を海外からの講演を含めて継続的に行ってきた。研究領域代表、総括班をはじめとして、きめ細かな領域運営が光る研究領域であり、人数が多い領域にも関わらず、領域としての一体感が感じられた。この一体感は得難いものであり、今後も、この領域での交流を足場として研究がさらに発展することを期待している。