

【基盤研究(S)】

大区分G



研究課題名 ゴルジ体を中心とした選別輸送機構の超解像ライブイメージングによる完全解明

理化学研究所・光量子工学研究センター・副センター長

なかの あきひこ
中野 明彦

研究課題番号：18H05275 研究者番号：90142140

キーワード：膜交通、ゴルジ体、選別輸送

【研究の背景・目的】

膜交通のメカニズムの理解は、超解像ライブイメージングの最先端技術によって根底から刷新されようとしている。我々は最近、細胞内を激しく動き回る小胞を4次元追跡できるきわめて時空間分解能の高い顕微鏡技術の開発に成功した。これによって小胞体→ゴルジ体→トランスゴルジ網という分泌経路の根幹の輸送過程を詳細に解析し、これまで描かれてきた膜交通のモデルを徹底的に検証し、真のメカニズムの完全解明を目指す。酵母細胞、植物細胞、動物細胞のそれぞれの専門家が、対応する輸送過程を比較検討し、細胞内体制が一見異なる三者から共通原理を抽出し、またそれぞれ独自のシステムの特徴を理解することによって、生命が編み出した選別輸送のメカニズムを包括的に理解する。

【研究の方法】

開発した超解像共焦点ライブイメージング顕微鏡(SCLIM2)を駆使して、以下の研究を進める。

[酵母細胞] ①ゴルジ体 *cis* 槽による小胞体からの積荷の受け取り。②ゴルジ槽間での積荷の受け渡し。③TGNでの複数経路の仕分けの時空間的制御。

[植物細胞] ①ゴルジ体初期区画 GECCO による小胞体からの積荷の受け取り。②ゴルジ体層板内での積荷の輸送。③TGNでの複数経路の仕分けの時空間的制御。

[動物細胞] ①小胞体ーゴルジ体中間区画 ERGIC による小胞体からの積荷の受け取り。②ゴルジ体層板内およびTGNでの積荷の輸送。③神経軸索におけるゴルジ体の役割。

【期待される成果と意義】

SCLIM顕微鏡は、既存の顕微鏡に比べて遥かに優れた時空間分解能を有し、細胞内のライブ観察を行うために適した技術である。しかし、小胞が激しく動き回る現象を追うには、さらなる性能改善が求められていた。この度我々は、検出系の感度を1000倍向上させることに成功し、時空間4Dスペースでの完全単一光子測定と自ら開発した画期的なデコンボリューションアルゴリズムによって、細胞内の蛍光分子を詳高速3Dで詳細に追うことを可能にした(SCLIM2の完成、図1)。この技術は世界に無二のものであり、オルガネラ膜上での被覆タンパク質のアセンブリー、積荷の選択とパッケージング、区画間での積荷の受け渡しなど、これまで見えそうで見

えず、攻めあぐねていた現象から、ついにボールを取り去ってくれる。

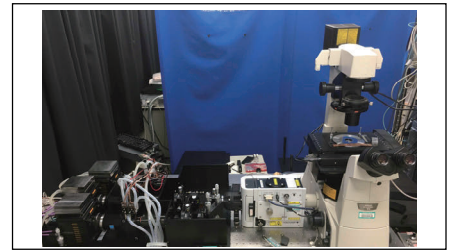


図1 SCLIM2

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Ito, Y., Uemura, T., and Nakano, A. (2018). Golgi Entry Core Compartment functions as the COPII-independent scaffold for ER-Golgi transport in plant cells. *J. Cell Sci.* 131:jcs203893.
- Ishii, M., Suda, Y., Kurokawa, K., and Nakano, A. (2016). COPI is essential for Golgi cisternal maturation and dynamics. *J. Cell Sci.* 129:3251-3261.
- Kurokawa, K., Suda, Y. and Nakano, A. (2016). Sar1 localizes at the rims of COPII-coated membranes *in vivo*. *J. Cell Sci.* 129:3231-3237.
- Kurokawa, K., Okamoto, M., and Nakano, A. (2014). Contact of *cis*-Golgi with ER exit sites executes cargo capture and delivery from the ER. *Nat. Commun.* 5:3653.
- Uemura, T., Suda, Y., Ueda, T., and Nakano, A. (2014). Dynamic behavior of the *trans*-Golgi network in root tissues of Arabidopsis revealed by super-resolution live imaging. *Plant Cell Physiol.* 55:694-670.
- Suda, Y., Kurokawa, K., Hirata, R., and Nakano, A. (2013). Rab GAP cascade regulates dynamics of Ypt6 during the Golgi maturation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 110:18976-18981.

【研究期間と研究経費】

平成30年度ー34年度
148,300千円

【ホームページ等】

<https://rap.riken.jp/labs/sprg/lcmirt/>