



第75回
日本細胞生物
学会大会

要旨集

2023年6月28日(水) - 30日(金)

会場

奈良県コンベンションセンター

〒630-8013 奈良県奈良市三条大路1丁目691-1

大会長

吉森 保

大阪大学

大会長挨拶

学会って必要なんですか？ 診断ガイドラインを決めるとか、政府に圧力をかけるとか、既得権益を守るとか、そういうことと無縁の基礎科学系の学会の存在意義って何でしょうか？ 学会の大会(学術集会)に参加すれば、分野の最新情報を得ることができる？ 今やネットで簡単に論文が読めるし、最近はプレプリントサーバーへの投稿も増えてきて未審査の段階で情報が得られます。いやいや、自分の成果をプレゼンしたり、ディスカッションしたりすることが大事？ それも学術変革や CREST やさがりげなどの班会議、あるいはテーマを絞った各種研究会・シンポジウム・セミナーのほうが密にできます。

こう考えると、なんだか学会って要らないような気がします。少なくとも幾つも要らなくて大きい学会ひとつだけで十分かも知れない。ところが、私はもう40年以上に亘って弱小の日本細胞生物学会の会員で大会にもほぼ全て参加しています。自分にとってはそれが当たり前で理由など考えたことはありませんでしたが、学会の存在意義を考えるようになってなぜだろうと自問してみました。

それで浮かんできた言葉が、「安心」でした。研究は基本的に孤独なものです。星の見えない闇夜を進む昔の帆船のように。特にすぐに役に立つことのない基礎研究は、自分がやっていることはこれでいいのかと悩むこともあります。そういう悩みがなくても、学問の潮流の中での位置づけや方向性などで不安になることもあります。

そういうとき、所属学会に行けば、大丈夫大丈夫と安心することができます。あるいは、方向を修正することができます。母港、おらが村、ふるさと、ホームグラウンド、喻えは何でも良いのですが、そういうものがあるのは悪くありません。根無し草として流されているのではないと確認するための、自分のルーツ、根っこ、アンカーとしての学会。大会は、出身部族の年に一度のお祭り、かな。我々なら細胞生物学トライブ。

こういう安心は数年単位で終了する班会議や、テーマが絞られすぎた研究会などでは得られません。それから「楽しい」ということも大事です。ここに行けば、昔から顔なじみの研究者や、さらには昔の自分を見るような活き活きした若い新顔たちと楽しい議論ができると言うこと。

安心できて楽しい、が第一義だとすると、重要なファクターは人の距離感です。日本細胞生物学会の規模はそういう意味で絶妙です。少なすぎず、多すぎず。巨大学会にはない、fan があります。学会長も務めたので、会員数が多い方が経営面では楽なのは重々承知していますが、本音としては、今くらいで、その代わりに将来に亘ってずっと続いて欲しいと思っています。

安心とか楽しいとか全然ロジカルじゃない、とあなたは思うかも知れません。でも研究も結局人間の営みです。そういう情緒的なことも結構大事だと、半世紀近く細胞生物学研究に携わってきつづく思うのです。

ニュートンの有名な言葉に「If I have seen further, it is by standing on the shoulders of giants.」があります。元々は他の哲学者が言ったようですが、科学は先人の成果の積み重ねによって構築されており、その上に乗ることで我々はより遠くまで見ることができる、といった趣旨のようです。

長年細胞生物学会に参加しているとそのことを実感します。ひとりひとりの研究成果は小さなものであっても、時間をかけて大勢がそれをひとつひとつ積むことで巨人の背が伸びていきます。それは研究者にとって大いなる愉楽です。

さあ、細胞生物学会大会に参加し、あなたはひとりでは無いことを感じて下さい。

今回は、ポスターセッションを毎日設定し、ポスター会場で活発な議論をして貰おうと思っています。これまで学会を担ってきた世代と、これから担う世代が、年齢や身分と関係なく忌憚りの無い科学の対話をする場になればと願っています。

またプレナリーレクチャーには、エンドサイトーシス経路／オートファジーの Harald Stenmark 博士(オスロ大学)、睡眠メカニズムの柳沢正史博士(筑波大学)、small RNA の塩見美喜子博士(東京大学)をお招きします。トップサイエンスに、大いに刺激を受けてください。

シンポジウムも沢山の興味深い提案を頂き、様々な分野を網羅したエキサイティングな 17 テーマが出揃いました。楽しみにして下さい。

それでは、奈良の地でお待ちしています。会場の奈良県コンベンションセンターは新しくきれいです。学会大会は楽しまなくてはいけませんから、会期の前後には是非豊かな奈良の自然や歴史も堪能して下さい。

第 75 回日本細胞生物学会大会会長
吉森 保

開催概要

大会名称

第75回日本細胞生物学会大会

会期

2023年6月28日(水)～2023年6月30日(金)

[6月27日(火) 14:00～18:00 細胞生物若手の会 交流会]

会場

奈良県コンベンションセンター

住所：〒630-8013 奈良県奈良市三条大路1丁目691-1

Tel：0742-32-2290

アクセス：近鉄・新大宮駅より徒歩約10分

組織委員会

吉森 保 (大阪大学大学院生命機能研究科)
中村 修平 (大阪大学大学院生命機能研究科)
濱崎 万穂 (大阪大学大学院生命機能研究科)
久万 亜紀子 (大阪大学大学院生命機能研究科)
田端 桂介 (大阪大学大学院生命機能研究科)
上西 達也 (大阪大学大学院生命機能研究科)
井本 ひとみ (大阪大学大学院生命機能研究科)
南 聡 (大阪大学大学院生命機能研究科)
志摩 喬之 (大阪大学大学院生命機能研究科)

大会運営事務局

[講演者・参加者からの問い合わせ、各種学術プログラム関連]

第75回日本細胞生物学会 大会事務局

E-mail: jscb2023@gt.med.osaka-u.ac.jp

[広告・出展に関するお問合せ]

業務委託先：株式会社ソウブン・ドットコム

〒116-0011 東京都荒川区西尾久 7-12-16

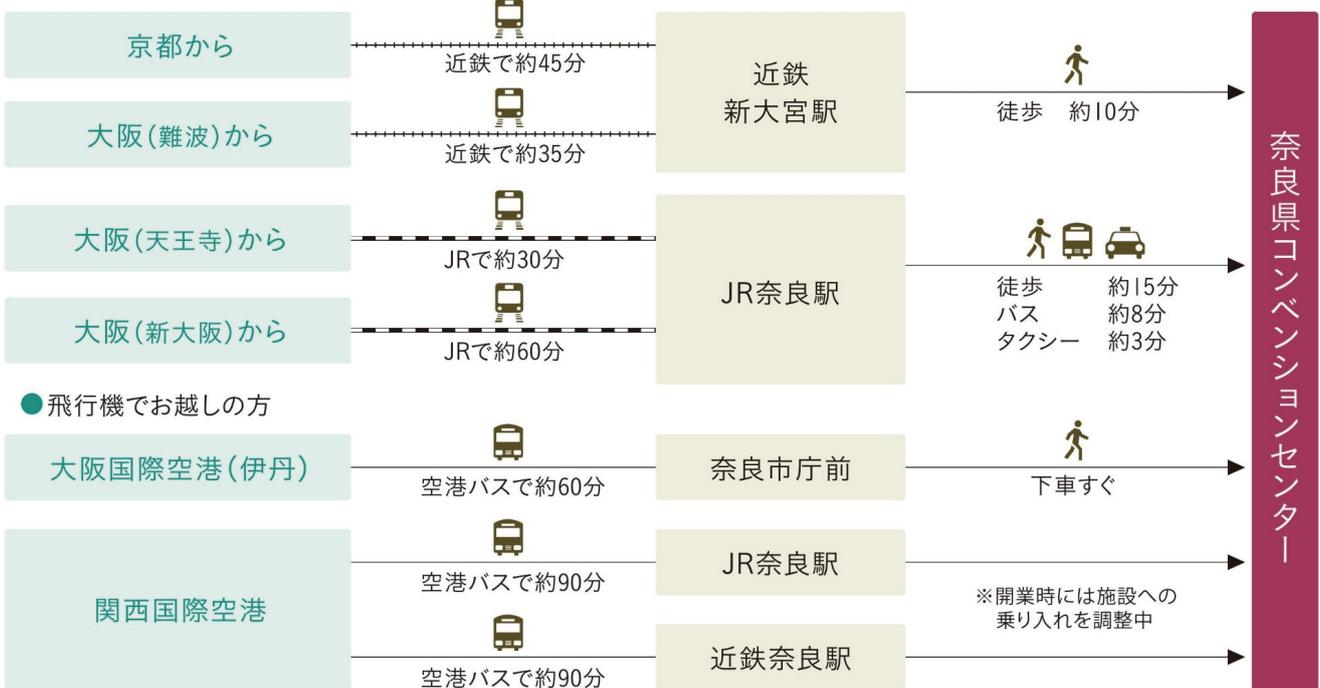
TEL: 03-3893-0111(代表) / E-mail: jscb-sp75@soubun.org

アクセス

会場アクセス



● 電車でお越しの方





<徒歩>

近鉄奈良線「新大宮」駅より徒歩約10分
 JR奈良駅／西口1F出口より徒歩約20分

<バス利用>

■ **ぐるっとバス（平日は30分間隔で運行）**
 近鉄奈良駅8番のりば（大宮通りルート／平城宮跡方面行き）
 大宮通りルート利用、「奈良県コンベンションセンター」下車

1乗車 100円（小児以上）
 ぐるっとバスを利用できるお得なフリー乗車券有り
<https://www.narakotsu.co.jp/rosen/rinji/gurutto-bus.html>

■ 奈良交通バス

<https://www.narakotsu.co.jp/rosen/>

➤ 近鉄奈良駅から

- 近鉄奈良駅11番のりば（西向き／奈良市庁前方面・尼ヶ辻駅方面・恋の窪町方面）
 - ・「恋の窪町」「【160・161系統】学園前駅（南）」「大和西大寺駅南口」「二条大路南一丁目」行き利用、「奈良市庁前」下車
 - ・「【48系統】学園前駅（南）」行き利用、「三笠中学校・NHK前」下車
- 近鉄奈良駅8番のりば（西向き／西条大宮町方面）
 - 「奈良県総合医療センター」「法隆寺前」行き利用、「三笠中学校・NHK前」下車

➤ JR奈良駅から

- JR奈良駅西口13番のりば（奈良市庁前方面・恋の窪町方面・大安寺方面）
 - 「恋の窪町」「【160・161系統】学園前駅（南）」「大和西大寺駅南口」「二条大路南一丁目」行き利用、「奈良市庁前」下車
- JR奈良駅東口6番のりば（三条大宮町方面）
 - 「奈良県総合医療センター」「法隆寺前」「【48系統】学園前駅（南）」行き利用、「三笠中学校・NHK前」下車

会場周辺のご案内

■ 周辺バス停



ショップ・飲食店 ※営業時間は変更になる場合がございます。

■ 館内店舗

<コンビニエンスストア>

ファミリーマート 営業時間 8:00～23:00

<飲食店>

スパイスカフェ 奈良ムマサラ 営業時間 11:00～20:00

スターバックス 営業時間 8:00～23:00

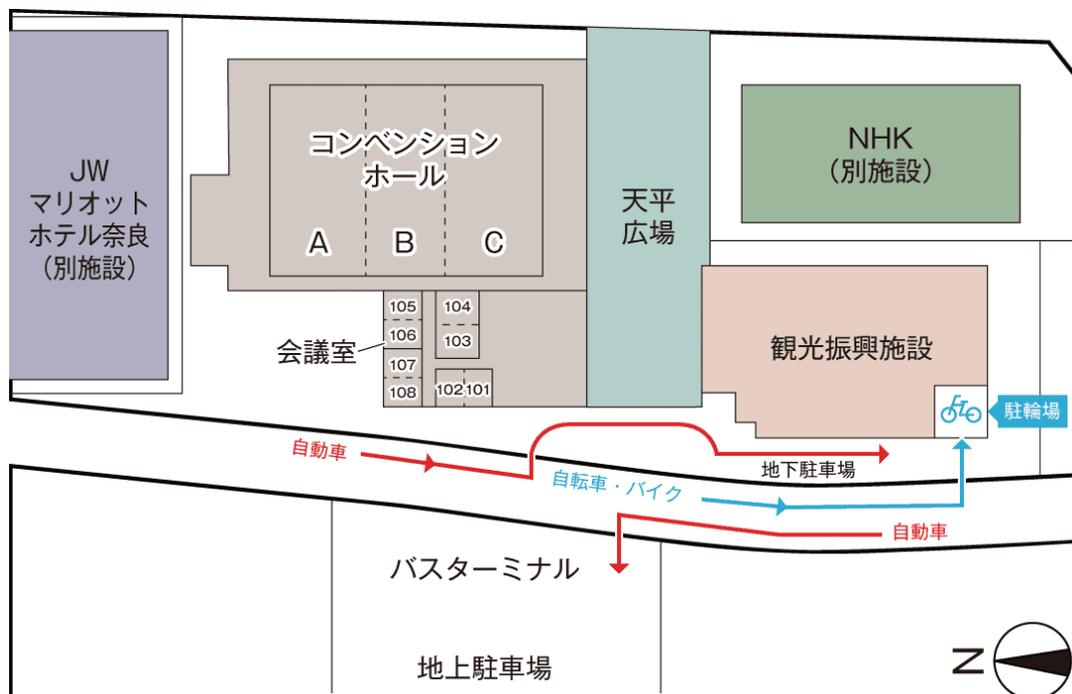
■ 周辺施設

商業施設「ミ・ナアラ」 営業時間 10:00～20:00

<https://www.mina-ra.com/>

奈良コンベンションセンター 駐車場

奈良県コンベンションセンターには来場者用駐車場がございます（予約不可）。



	利用時間	利用料金
駐車場（地下）	0:00～24:00（24時間）	30分／100円（08:00～24:00） 1時間／100円（0:00～8:00） ※入庫後60分以内無料 ※最大料金24時間／1000円
駐車場（地上）	入庫可能時間 8:30～21:00 出庫可能時間 8:30～22:00	

※地下駐車場高さ制限（一般車）：2.2m

会場案内図

1F

JWマリオット
ホテルへ



2F

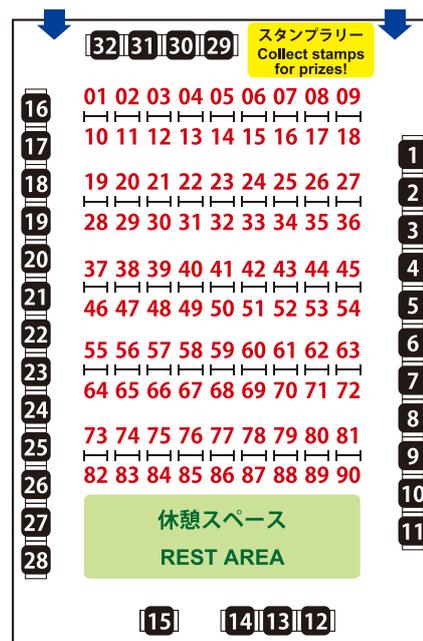


ポスター・企業展示会場案内図

P会場 (コンベンションホールC)

Venue P (Convention Hall C)

Poster / Exhibition Floor Map



No.	出展者	Exhibitor
1	株式会社 新興精機	SHINKOSEIKI Co., Ltd.
2/3	株式会社ニコンソリューションズ	NIKON SOLUTIONS CO., LTD.
4	ヤマト科学株式会社	Yamato Scientific Co., Ltd.
5	ソニー株式会社	SONY
6	アンドール・テクノロジー / オックスフォード・インストゥルメンツ	Andor Technology / Oxford Instruments K.K.
7	株式会社池田理化	IKEDA SCIENTIFIC Co., Ltd.
8	CEM Japan	CEM
9	浜松ホトニクス株式会社	HAMAMATSU PHOTONICS K.K.
10/11	カールツァイス株式会社	Carl Zeiss Co., Ltd.
12	ライカマイクロシステムズ株式会社	Leica Microsystems K.K.
13	アイリックス株式会社	AIRIX Corp.
14	横河電機株式会社	YOKOGAWA
15	宇宙航空研究開発機構 (JAXA)	Japan Aerospace Exploration Agency (JAXA)
16	トミーデジタルバイオロジー株式会社	TOMY DIGITAL BIOLOGY CO., LTD.
17	日本電子株式会社	JEOL Ltd.
18	株式会社 GC リンフォテック	GC LYMPHOTEC Inc.
19	株式会社日本シノバイオロジカル	Sino Biological JAPAN Inc.
20	Life Analytics 株式会社	Life Analytics Co., LTD.
21	株式会社日本サーマル・コンサルティング	Nihon Thermal Consulting Co., Ltd.
22	ショーシン EM 株式会社	Shoshin EM Corporation
23	中山商事株式会社	Nakayama Co., Ltd.
24	健都イメージングサポート拠点	COI-NEXT Support Unit for Imaging Sciences at Kento
25	理化学研究所 バイオリソース研究センター	RIKEN BioResource Research Center
26	先端バイオイメージング支援プラットフォーム (ABiS)	Advanced Bioimaging Support
27/28	株式会社エビデント	Evident Corporation
29/30	ユサコ株式会社	USACO CORPORATION
31/32	羊土社	YODOSHA

日程表

6月28日(水) | 1日目

2023年6月28日(水)		9:00	11:30	12:15	13:15	13:45	15:15	17:10	19:40
2F	A会場 会議室 201 会議室 202	S-D1-A001 (英語) JST CREST [情報計測] / [細胞外微粒子] 共催 Plasma membrane shaping and vesicle formation in response to forces 末次 志郎 (奈良先端大) / 鈴木 健一 (岐阜大)		L-D1-A001 株式会社 エビデント	総会	O-D1-A001 (日本語) 染色体・核・遺伝子・細胞接着・細胞外マトリクス・最新技術・その他 大杉 英雄 (東大) / 前島 一博 (遺伝研)		Y-D1-A001 (日本語) 若手最優秀発表賞選考会 大澤 志津江 (名大) / 青木 一洋 (自然科学研究機構)	
	B会場 会議室 203	S-D1-B001 (英語) New directions in the role of cell adhesion in multicellular systems 池ノ内 順一 (九大) / 大澤 志津江 (名大)				O-D1-B001 (日本語) 細胞増殖・分化・死・シグナル伝達・免疫・感染 大澤 志津江 (名大) / 小根山 千歳 (愛知県がんセンター)		S-D1-B002 (日本語) バイオリジカルクラスターによる超分子複合体形成 深川 竜郎 (阪大) / 北川 大樹 (東大)	
	C会場 会議室 204	S-D1-C001 (日本語) メカノバイオロジー研究で迫る細胞-微小環境の相互作用 木岡 紀幸 (京大) / 山城 佐和子 (京大)				O-D1-C001 (日本語) 細胞骨格・運動 茂木 文夫 (北大) / 末次 志郎 (奈良先端大)		S-D1-C002 (日本語) AMED-CREST [プロテオスタシス] 共催 オルガネラ膜物性から探るオルガネラの機能 田村 康 (山形大) / 高橋 康史 (名大)	
	D会場 会議室 205 会議室 206	S-D1-D001 (日本語 / リモート講演あり) 学術変革領域研究(B) [ポストリソソーム] 共催 プロテオスタシス研究から明らかにされる老化の本質とその制御法 高杉 征樹 (大阪公立大) / 中村 修平 (阪大)				L-D1-D001 ライカ マイクロシステムズ 株式会社		O-D1-D001 (日本語) 細胞内輸送・オルガネラ・生体膜・タンパク質の一生 佐藤 健 (群馬大) / 栗山 晋也 (東大)	
1F	P会場 ホールC	ポスター展示				ポスターセッション P-D1-P001			
		企業展示							

6月29日(木) | 2日目

2023年6月29日(木)		9:00	11:30	12:15	13:15	13:30	14:30	14:45	15:45	17:30	18:15	18:30	20:30
2F	A会場 会議室 201 会議室 202	S-D2-A001 (英語) 新学術領域研究 [多経路自食作用] 共催 Dynamic landscape of membranes in motion 中津 史 (新潟大) / Min Wu (Yale Univ.)		L-D2-A001 株式会社 ニコソリュ ーションズ	CSF 編集 委員会 (非公開)	PL-D2-BC001 (英語) 柳沢 正史 (筑波大) Deciphering the mysteries of sleep: toward the molecular substrate for "sleepiness" 2会場一併利用		PL-D2-BC002 (英語) Harald Stenmark (Oslo Univ. Hospital / Univ. of Oslo) Cellular membrane dynamics and cancer 2会場一併利用		懇親会 細胞生物若手の会 表彰式 CSF Award 授賞式 若手最優秀発表賞 授賞式 奈良ロイヤルホテル (大会会場より徒歩8分)			
	B会場 会議室 203	S-D2-B001 (日本語) JST CREST [細胞外微粒子] 共催 「細胞外キャリア」の多様性とその形成機構 小根山 千歳 (愛知県がんセンター) / 福田 光則 (東北大)											
	C会場 会議室 204	S-D2-C001 (日本語) 学術変革領域研究(A) [多細胞生命自律性] 共催 多細胞システムの自律性を支える競合的・協調的コミュニケーション 石谷 太 (阪大) / 井垣 達史 (京大)											
	D会場 会議室 205 会議室 206	S-D2-D001 (日本語 / リモート講演あり) 「観る」を通して築いた軌跡と若手研究者へのメッセージ 細胞生物若手の会				L-D2-D001 カール ツァイス 株式会社							
1F	P会場 ホールC	ポスター展示				ポスターセッション P-D2-P001							
		企業展示											

日程表

6月30日(金) | 3日目

2023年6月30日(金)		9:00	11:30	12:15	13:15	13:30	14:30	16:25	18:55
2F	A会場 会議室 201 会議室 202	S-D3-A001 (英語) 新学術領域研究 [生命の情報物理学] 共催 Information physics of cell 青木 一洋 (自然科学研究機構) 岡田 康志 (東大/理研)		L-D3-A001 学術変革領域(A) [物質共生] 共催 男女共同参画 大澤 志津江 (名大) 佐藤 あやの (岡山大)				S-D3-A002 (英語) アイリックス株式会社 共催 学術変革領域研究(A) [生体秩序力学] 共催 Mechano-chemical cross-talk at the luminal interface 市川 尚文 (京大) / 進藤 麻子 (熊大)	
	B会場 会議室 203	S-D3-BC001 (日本語) 横河電機株式会社 共催 JST CREST [細胞内ダイナミクス] 共催 膜交通経路におけるオルガネラ時空間ダイナミクス ~保存性と多様性~ 加藤 見一 (自然科学研究機構) 植村 知博 (お茶の水女子大) 戸島 拓郎 (理研) 2会場一体利用				PL-D3-BC001 (英語) 塩見 美喜子 (東大) piRNAs protect the germline genome from transposon invasion 2会場一体利用		S-D3-B001 (日本語) ベクタービルダー 共催 寄生性原虫の細胞生物学から発信する新しい細胞機能研究 二瓶 浩一 (微化研) / 津久井 久美子 (感染研)	
	C会場 会議室 204							S-D3-C001 (日本語) 生体分子の振動波を通して発掘する新しい細胞機能 高橋 淑子 (京大)	
	D会場 会議室 205 会議室 206	S-D3-D001 (日本語) 国際先導研究 [植物生殖の鍵分子ネットワーク] 共催 環境を感じる細胞 森田 (寺尾) 美代 (基生研) 東山 哲也 (東大)		L-D3-D001 サーモフィッシャーサイエンティフィック				S-D3-D002 (日本語 / リモート講演あり) 細胞の identity change がもたらす組織再生と老化 中西 未央 (千葉大)	
1F	P会場 ホールC	ポスター展示				ポスターセッション P-D3-P001			
		企業展示							

大会長挨拶

開催概要

アクセス

ポスター・企業展示・会場案内図

日程表

座長・発表者へのご案内

参加者へのご案内

プログラム・要旨

協賛企業・団体一覧

座長・発表者へのご案内

1. オーガナイザー / 座長へのご案内

◆座長受付

プログラム開始 10 分前までに当該会場内右手前方の座長席までお越しのうえ、係の者に来場された旨お伝えください。

◆進行および時間の管理

オーガナイザー・座長に一任しますので、演者の発表時間を厳守し、円滑な運営にご協力ください。時間経過のベルのタイミングについて、会場係へお伝えください。特段のご指示がない場合には次のタイミングでベルを鳴らします。プレナリーレクチャーについて経過時間のベルはありません。

ベル 1 回 講演時間終了

シンポジウム 3 分前

一般口頭 / 若手最優秀発表賞選考会 1 分前

ベル 2 回 講演時間終了, 質疑応答開始

ベル 3 回 質疑応答終了(持ち時間終了)

2. プレナリーレクチャー講演者へのご案内

◆講演言語

英語

◆講演時間

60 分(講演 45 分, 質疑 15 分)

経過時間のベルはありません。

◆講演方法

必ずご自身のノートパソコンをご持参ください。ご自身のノートパソコンを操作しプレゼンテーションを行っていただきます。スクリーンとプロジェクターは 16:9 対応ですので、一番きれいな状態で投影できるのは 16:9 ですが、4:3 の資料でも投影は可能です。

※以下の点についてご留意ください。

- ・発表中にスクリーンセーバー、省電力モードにならないようにあらかじめ設定しておいてください。
- ・バッテリー切れに備え、電源アダプターをご持参ください。
- ・音声出力には対応していません。
- ・パソコンとプロジェクターをつなぐ HDMI のケーブルは大会で準備します。

ケーブルとパソコンをつなぐコネクタ / アダプターが必要な場合は各自でご準備ください。

◆講演者受付

映写の確認を行っていただきますので、セッション開始 10 分前までに、会場内左手前方の「次演者席」にノートパソコンをご持参のうえ、お越しくください。

座長・発表者へのご案内

3. シンポジウム講演者へのご案内

◆講演言語

シンポジウムによって異なりますのでご注意ください（各シンポジウムの講演言語は大会 HP のセッション情報に記載されています）発表スライドは講演言語に関わらず、英語での作成をお願いします。

◆講演時間

講演・質疑応答時間は演題ごとに異なっておりますのでご注意ください。経過時間については、オーガナイザーから特段の指示がない限り、以下のタイミングでベルによりお知らせします。

ベル 1 回 講演時間終了 3 分前

ベル 2 回 講演時間終了, 質疑応答開始

ベル 3 回 質疑応答終了(持ち時間終了)

◆講演方法

必ずご自身のノートパソコンをご持参ください。ご自身のノートパソコンを操作しプレゼンテーションを行っていただきます。

※ただし以下の3つのセッションのみ、ご自身のノートパソコンではなく、大会事務局が演台上に用意したパソコンから Zoom で画面共有して発表していただきます。講演スライドを格納した USB メモリ等をご持参ください。

- ・ S - D1 - D001 プロテオスタシス研究から明らかにされる老化の本質とその制御法
- ・ S - D2 - D001 「観る」を通して築いた軌跡と若手研究者へのメッセージ
- ・ S - D3 - D002 細胞の identity change がもたらす組織再生と老化

スクリーンとプロジェクターは 16:9 対応ですので、一番きれいな状態で投影できるのは 16:9 ですが、4:3 の資料でも投影は可能です。

※以下の点についてご留意ください。

- ・ 発表中にスクリーンセーバー、省電力モードにならないようあらかじめ設定しておいてください。
- ・ バッテリー切れに備え、電源アダプターをご持参ください。
- ・ 音声出力には対応しておりません。
- ・ パソコンとプロジェクターをつなぐ HDMI のケーブルは大会で準備します。

ケーブルとパソコンをつなぐコネクタ / アダプターが必要な場合は各自でご準備ください。

◆講演者受付

映写の確認を行っていただきますので、セッション開始 10 分前までに、各会場内左手前方の「次演者席」にノートパソコンをご持参のうえ、お越しください。

※ただし以下の3つのセッションのみ、発表スライドを USB メモリー等にコピーしてご持参ください。セッション開始10分前までに、大会事務局が演台上に設置したパソコンで映写の確認を行ってください。

- ・ S - D1 - D001 プロテオスタシス研究から明らかにされる老化の本質とその制御法
- ・ S - D2 - D001 「観る」を通して築いた軌跡と若手研究者へのメッセージ
- ・ S - D3 - D002 細胞の identity change がもたらす組織再生と老化

4. 一般口演 / 若手最優秀発表賞選考会 講演者へのご案内

◆講演言語

演題投稿時にご自身で選択した言語で講演してください。発表スライドは講演言語に関わらず、英語での作成をお願いします。

◆講演時間

講演時間は下記のとおりです。

一般講演 11分(講演 9分, 質疑 2分)

若手最優秀賞発表賞選考会 15分(講演 12分, 質疑 3分)

経過時間については、以下のタイミングでベルによりお知らせします。

ベル 1 回 講演時間終了 1 分前

ベル 2 回 講演時間終了, 質疑応答開始

ベル 3 回 質疑応答終了(持ち時間終了)

◆講演方法

必ずご自身のノートパソコンをご持参ください。ご自身のノートパソコンを操作しプレゼンテーションを行っていただきます。スクリーンとプロジェクターは 16:9 対応ですので、一番きれいな状態で投影できるのは 16:9 ですが、4:3 の資料でも投影は可能です。

※以下の点についてご注意ください。

- ・発表中にスクリーンセーバー、省電力モードにならないようにあらかじめ設定しておいてください。
- ・バッテリー切れに備え、電源アダプターをご持参ください。
- ・音声出力には対応しておりません。
- ・パソコンとプロジェクターをつなぐ HDMI のケーブルは大会で準備します。

ケーブルとパソコンをつなぐコネクタ / アダプターが必要な場合は各自でご準備ください。

◆講演者受付

映写の確認を行っていただきますので、セッション開始 10 分前までに、各会場内左手前方の「次演者席」にノートパソコンをご持参のうえ、お越しください。

座長・発表者へのご案内

5. ポスター発表者へのご案内

◆ポスター掲示, 発表・討論, 撤去時間

ポスターは各日程「貼り換え」となります。

あらかじめ大会事務局より指定した発表日に掲示、撤去を行ってください。

発表資料は各自でお持ちください。

郵送による受付・返却はいたしません。

発表・討論の時間には、ご自分のポスター前に立ち、質問・討論に応じてください。

なお、発表者を示す黄色のリボンを用意しますので、胸にお付け下さい。

◆掲示、発表、撤去時間

※大会事務局から指定した発表日のみ貼り付けをしてください。

※受付時間開始後、発表開始時間までにできるだけ速やかに掲示してください。

※撤去も発表日と同日の指定した時間に行ってください。

※**該当日に発表する方全員が 90 分間発表してください。**

発表時間前後半での発表者入れ替えはありません。

	ポスター掲示	発表時間	撤去完了
6月28日(水)	9:30 ~	15:30 ~ 17:00	17:15
6月29日(木)	9:30 ~	16:00 ~ 17:30	17:45
6月30日(金)	9:30 ~	14:45 ~ 16:15	16:30

◆掲示要領

①掲示場所

パネルの左上には演題番号が貼ってありますので、所定のパネルに掲示してください。ポスターの貼付に必要な押しピンは、各パネルに用意します。ご自身の掲示場所については、大会 HP のポスター・展示会場マップでご確認ください。

②掲示スペース

ポスターパネルのサイズは、W 90 cm × H 153 cm(+パネルの脚の部分 27cm) です。ポスター上部に、演題名、発表者名および所属を大きな文字で書いてください。

演題番号はこちらで準備しますので、ポスター内に書く必要はありません。

③発表者の印

発表者氏名の左肩に小さな○印を付けてください。

④使用言語

発表および質疑応答は、演題投稿時にご自身で選択された言語で行ってください。ポスターは発表言語に関わらず、英語での作成をお願いします。

※ただし、高校生のポスター発表については日本語での作成も認めます。

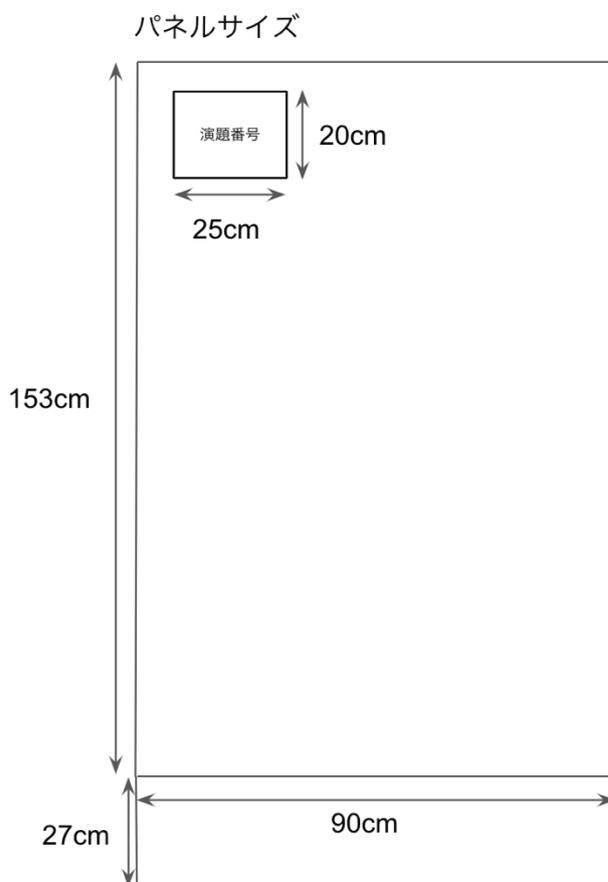
座長・発表者へのご案内

⑤文字等の大きさ

発表内容は 2m ぐらい離れた位置からでも読めるように、十分大きな文字を用いてください。図・表もできるだけ大きなものにしてください。

⑥ポスター撤去

各日程最終の発表時間終了後、撤去完了時間までにご自身で撤去してください。撤去完了時刻を過ぎても掲示しているポスターは大会事務局側で撤去・廃棄いたします。大会事務局での保管・返却はいたしませんのでご了承ください。



参加者へのご案内

事前のご準備

< 事前参加登録済みの方 >

参加証は6月21日以降、大会ウェブサイトにてダウンロードが可能となります。ご自身で印刷し、ご持参ください。

印刷済みの抄録集 pdf は大会事務局では準備していません。必要な方は、事前にダウンロードしてご来場頂きますよう、お願いいたします。

< 宿泊先ご登録のお願い(奈良県内に宿泊される場合のみ) >

奈良県コンベンション開催助成金の申請のため、奈良県内に宿泊される場合は、下記のフォームより、宿泊者情報のご登録をお願いいたします。

「第75回日本細胞生物学会大会」参加者向け宿泊先ご登録フォーム

https://docs.google.com/forms/d/e/1FAIpQLSco6WuPVBRsHplYwpHNBpYsGhDtkSC2a0hKJps8qZbOKupjPQ/viewform?usp=sf_link

「第75回日本細胞生物学会大会」協賛社様向け宿泊先ご登録フォーム

https://docs.google.com/forms/d/e/1FAIpQLSfGJHtMpbLCMswv02kgztlSZ7dnNNl0iO_csw0AZ6WMfVYD_Q/viewform?usp=sf_link

※Google フォームへ移動します。

ご登録項目：

ご所属先(会社名・学校名等) / 在住地(国内の場合は都道府県名、国外の場合は Country & City) / 国籍 / 宿泊施設名(奈良県内のホテル・旅館等) / チェックイン日・チェックアウト日

Affiliation / Residence(Country & City) / Nationality / Accommodation in Nara Prefecture / Check-in and Check-out dates

当日の受付

事前に大会ウェブサイトで参加登録をされた方は受付の必要はありません。ご自身で印刷した参加証をカードケースに入れ会場へご入場ください。参加証用カードケースとストラップは2階ホワイエに設置しております。

参加証忘れ、または未決済の方で、参加証をお持ちでない方は受付にお申し出ください。

受付設置場所：奈良県コンベンションセンター 2階ホワイエ

受付時間：6月28日(水) 8:30 ~ 17:15

6月29日(木) 8:30 ~ 18:00

6月30日(金) 8:30 ~ 16:30

受付内容：当日参加登録・総合案内・学会入会・他各種ご案内

参加者へのご案内

当日参加登録費(後期登録)

	大会参加登録(後期登録)	懇親会(後期登録)
正会員	11,000 円	10,000 円
非会員	14,000 円	10,000 円
学生会員	無料	4,000 円
招待(会員)	11,000 円	10,000 円
招待(非会員)	無料	10,000 円

※学生の大会参加費は無料です。証明する書類(学生証など)を必ずご提示ください。

※ご自身のパソコンやスマートフォンから大会ウェブサイトへアクセスして、参加登録・お支払いしていただくこととなりますので、可能な限りご来場前のお手続きをお願いいたします。

※お支払いはクレジットカードとなります。クレジットカードでのお支払いができない方のみ、現金でのお支払いに対応しますが、その際釣銭の用意はございませんので、おつりのないようご準備をお願いいたします。

※懇親会会場(奈良ロイヤルホテル)では参加登録・お支払いの受付はできません。懇親会の参加登録・お支払いに関するお問合せは奈良県コンベンションセンター2階受付までお願いいたします。

※奈良県内に宿泊される場合は大会終了までに上記のフォームより宿泊者情報のご登録をお願いします。

参加証(名札)

大会・懇親会会場では、氏名と所属が記入された参加証を必ずご着用ください。

参加証を着用していない方の入場は固くお断りいたします。

企業ランチョンセミナーのご案内・参加方法

参加証に付帯している「ランチョンセミナー整理券引換券」の参加登録情報提供欄の「合意する」へ印を付けて、セミナーデスクへお越しください。「ランチョンセミナー整理券引換券」と引き換えに「お弁当引換券」を発売いたします。

セミナー会場へは「お弁当引換券」をお持ちのうえ、お越しください。

<セミナーデスク>

設置場所： 奈良県コンベンションセンター 2階ホワイエ

開設時間： 6月28日(水)～6月30日(金) 8:30～9:30

※「お弁当引換券」は、ランチョンセミナーを共催される企業・団体様より提供いただくお弁当の引換券になります。お弁当の提供数はセミナーごとに異なります。

※「お弁当引換券」はランチョンセミナー開始後10分を過ぎると無効となり、「お弁当引換券」をお持ちでない別の参加者に提供されますことをご了承ください。

参加者へのご案内

男女共同参画推進について

男女共同参画に関する講演を、ランチョンセミナー形式で開催いたします。

「お弁当引換券」は必要ありませんので、会場へ直接お越しください。

日時：6月30日(金) 12:15～13:15

会場：A会場(会議室 201/202)

附設展示会 ー機器・試薬等展示会ー について

下記のとおり附設展示会を行いますので、皆様お立ち寄りください。

日時：

6月28日(水) 9:30～17:30

6月29日(木) 9:30～18:00

6月30日(金) 9:30～16:15

会場：ポスター・附設展示ホール(奈良県コンベンションセンター1階)

※会場内では、スタンプラリーを実施いたします。展示ブースをまわってスタンプを集めた方には景品(ご当地スイーツ、ノベルティ、飲料等)をご用意しております。なお、景品の数には限りがありますので、予めご了承ください。

※スタンプラリーの台紙は、現地で配布する参加証用カードケースの中に入っております。

懇親会

下記のとおり懇親会を開催いたします。

懇親会会場入口で参加証をご提示の上、ご入場ください。

日時：6月29日(木) 18:30～20:30(開場 18:00)

場所：奈良ロイヤルホテル 2階 鳳凰の間(大会会場から徒歩8分)

ホテル公式ウェブサイト <https://nara-royal.co.jp/>

原則として事前申込制ですが、当日申込可能な場合は奈良県コンベンションセンター2階受付に掲示いたします。

当日申込をご希望の場合は奈良県コンベンションセンター2階受付へお越しください。

参加者へのご案内

会場内外のサービス・施設

◆ クローク

下記のとおりクロークを設置し、お荷物をお預かりします。貴重品、コンピューター等につきましては、破損・紛失等の責任は負いかねますので、各自でお持ちください。

日 時：6月28日(水) 8:30～20:00

6月29日(木) 8:30～18:00

6月30日(金) 8:30～19:30

場 所：奈良県コンベンションセンター1階 会議室 101

※6月29日(木)の懇親会にご参加の方は奈良ロイヤルホテルへ移動する前にお荷物をお引き取りください。

◆ インターネット

館内無料 Wi-Fi をご利用いただけます。接続方法は2階ホワイエ内に掲示いたします。

なお、通信容量に限りがありますので、web 会議や動画視聴などの利用はご遠慮いただきますようお願いいたします。

◆ 休憩スペース

1階ポスター・附設展示ホール内 休憩コーナー(飲食可、Wi-Fi あり)

1階ホワイエ(食事可、Wi-Fi あり)

2階ホワイエ(食事可、Wi-Fi あり)

◆ 呼び出し

会場内での呼び出しは一切行いません。

◆ 駐車場

会場には有料駐車場がありますが、駐車スペースに限りがありますので、できる限り公共交通機関をご利用ください。

	利用時間	利用料金
駐車場(地下)	0:00～24:00(24時間)	30分／100円(08:00～24:00)
駐車場(地上)	入庫可能時間 8:30～21:00 出庫可能時間 8:30～22:00	1時間／100円(0:00～8:00) ※入庫後60分以内無料 ※最大料金24時間／1000円

参加者へのご案内

◆ ショップ・飲食店 ※営業時間は変更になる場合がございます。

奈良県コンベンションセンター 館内店舗

ファミリーマート 営業時間 8:00～23:00

スパイスカフェ 奈良ムマサラ 営業時間 11:00～20:00

スターバックス 営業時間 8:00～23:00

周辺施設

商業施設「ミ・ナーラ」 営業時間 10:00～20:00

施設ウェブサイト <https://www.mina-ra.com/>

注意事項

◆ 撮影・録音

講演会場、ポスター会場内でのカメラ、ビデオ、携帯電話等による撮影・講演音声の録音は禁止します。

◆ 携帯電話

講演会場内での携帯電話による通話は禁止します。また、会場内ではマナーモードに設定し、講演中に呼び出し音が鳴らないようご注意ください。

◆ 喫煙

<奈良県コンベンションセンター(大会会場)>

施設内全面禁煙となります。道路等(歩道、バスターミナル、駐車場を含む)での喫煙もご遠慮ください。隣接敷地内に立ち入っての喫煙も禁止しております。

CLUB JT ウェブサイト 喫煙所 MAP <https://www.clubjt.jp/map>

<奈良ロイヤルホテル(懇親会会場)>

1階入口脇に喫煙所がございます。喫煙所以外は禁煙となります。

◆ 新型コロナウイルス感染症(COVID-19)対策

感染症対策へのご協力をお願いいたします。

- ・発熱や体調不良の場合は、来場をご遠慮ください。
- ・咳エチケットやこまめな手洗いなどの実施をお願いいたします。

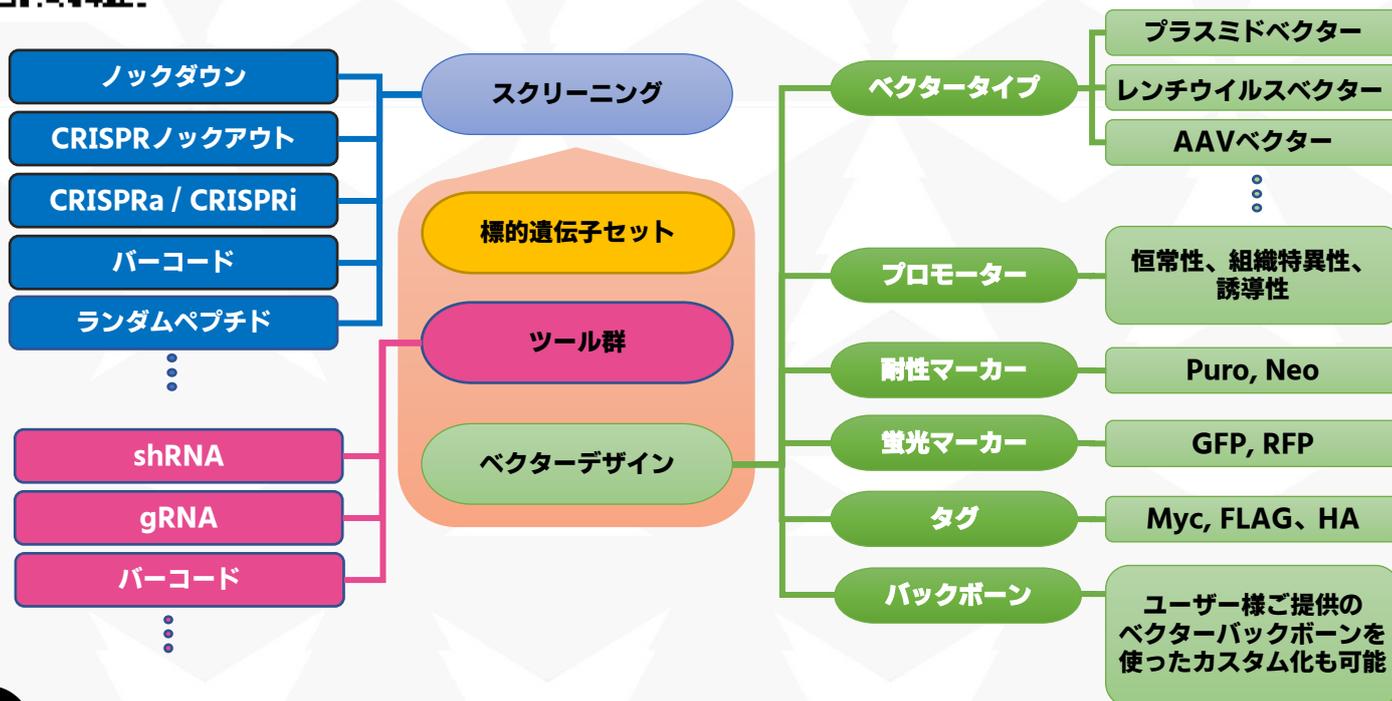


カスタムライブラリー

ご希望に合わせてフレキシブルにライブラリーをデザイン・作製



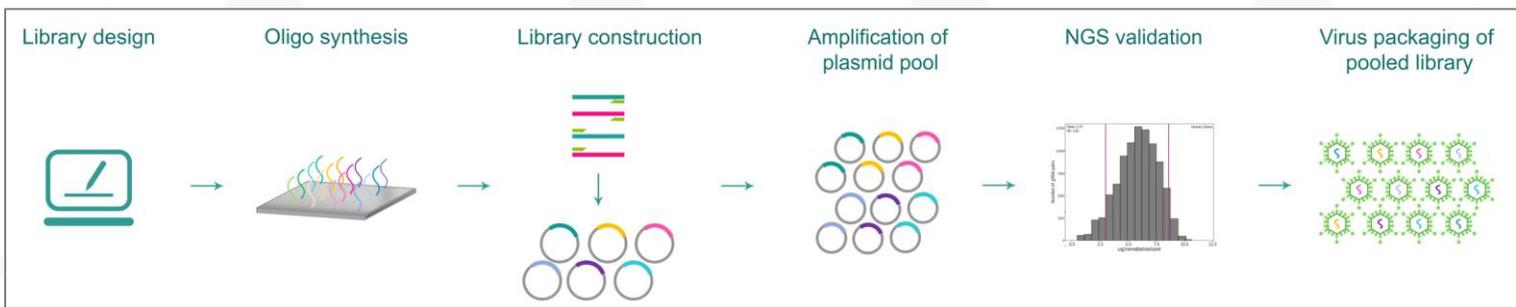
すべて組み合わせ自由！



ライブラリーサイズ

- ◆ gRNAまたはshRNAライブラリー : 最小20クローン ~ 最大100,000クローン
- ◆ バーコードライブラリー : 最小 1×10^5 クローン ~ 最大 1×10^8 クローン

ライブラリー構築の全工程を一括管理して品質を最適化



スクリーニング後サンプルの次世代シーケンス解析サポート

- ◆ スクリーニング後サンプルからのNGSデコンボリューション
- ◆ NGSライブラリー作成、Illuminaシーケンス(>500x coverage)、データ解析
- ◆ Advance analysisにも対応可能 (pair-wise analysisなど、要相談)

プログラム・要旨

2023年6月28日(水)

1日目

シンポジウム、ランチョン、一般口頭、若手最優秀賞

Plasma membrane shaping and vesicle formation in response to forces

2023/6/28 09:00 ~ 11:30 | A 会場

座長 : Shiro Suetsugu (NAIST), Kenichi G.N. Suzuki (Gifu Univ.)

Co-sponsored by JST CREST [Intelligent Measurement Analysis] / JST CREST [Extracellular Fine Particles]

The plasma membrane responds to mechanical stimuli to buffer membrane tension. The mechanical stimuli can also stimulate the shedding of the plasma membrane into the extracellular vesicles. These buffering and shedding should interplay with each other for the cells to adapt to the mechanical stresses. In this symposium, the caveolae as a tension buffer and endocytic apparatus, as well as the cellular protrusions for the extracellular vesicles, will be introduced and discussed.

S - D1 - A001 - 001

Molecular assembly mechanism of BAR domains on the lipid membranes and extracellular vesicle formation

* Shiro Suetsugu (Nara Institute of Science and Technology)

09:00-09:30

S - D1 - A001 - 002

CDD133 promotes vesicles formation that convey regulating informations for the breast cancer microenvironment.

* Gisela D'Angelo (Curie Institute)

09:30-10:00

S - D1 - A001 - 003

Digging into caveolae by lipid and protein interactions

* Kenichi G. N. Suzuki (iGCORE, Gifu Univ. | Natl. Cancer Ctr. Res. Inst. | Grad. Sch. Nat. Sci. Technol., Gifu Univ. | United Grad. Sch. Agr. Sci., Gifu Univ.), Toi Kawai (Grad. Sch. Nat. Sci. Technol., Gifu Univ.), Toshiki Mori (United Grad. Sch. Agr. Sci., Gifu Univ.), Koichiro M. Hirose (iGCORE, Gifu Univ.), Rinshi S. Kasai (iGCORE, Gifu Univ. | Natl. Cancer Ctr. Res. Inst.), Yasunari Yokota (Grad. Sch. Eng., Gifu Univ.)

10:00-10:30

S - D1 - A001 - 004

Regulation of muscle membrane robustness by membrane remodelling factors BIN1 and dynamin 2

* Tetsuya Takeda (Okayama University, Faculty of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences)

10:30-11:00

S - D1 - A001 - 005

Remote Control of Cell Signaling through Caveolae Mechanics

* Christophe LAMAZE (Institut Curie, Paris, France)

11:00-11:30

Molecular assembly mechanism of BAR domains on the lipid membranes and extracellular vesicle formation

* Shiro Suetsugu (Nara Institute of Science and Technology)

キーワード : Extracellular vesicles, BAR domain, phase separation

Bin-Amphiphysin-Rvs (BAR) family domain proteins include N-, F-, and I-BAR domain subfamilies. BAR domains are scaffold proteins for membrane curvature. Many BAR domain proteins are involved in endocytic pit formation and vesicle formation, that are generated by their cleavage by mechanical forces. In contrast, proteins with I-BAR domains are involved in the formation of cellular protrusions such as filopodia. We found that cellular protrusions formed by the proteins with I-BAR domains are also cleaved to extracellular vesicles. Interestingly, the cleavage of these cell protrusions was promoted by external forces found in vivo. This finding suggests that endocytosis and extracellular vesicle formation occur by similar mechanisms. The proteins contained in these I-BAR domain-dependent extracellular vesicles differed by the types of the I-BAR domain proteins and the cell types. Thus, it is suggested that oligomer formation by the I-BAR domain-bearing proteins themselves is involved in the protein sorting into these extracellular vesicles.

On the other hand, the mechanism of formation of the oligomeric BAR domain has not been clear. One possible reason for the difficulty in analyzing the oligomer formation is the small size of the assembly in submicron scales, i.e., for coated pits. Therefore, we focused on GAS7 with the F-BAR domain, which is involved in the formation of phagocytotic cup formation, which is relatively larger than coated pits. The phagocytotic cup formation requires multivalent scaffold proteins including WASP/N-WASP, WISH, and Nck, together with Cdc42 and phosphorylated receptors on the plasma membrane. The multivalent interactions between these proteins promoted the assembly of the GAS7, and the assembly was attenuated by mutations in WASP found in Wiskott Aldrich Syndrome. Thus, Cdc42 and scaffold proteins promote GAS7 multimer formation. We suggest that such a mechanism is also at work in other BAR-domain-containing proteins.

CDD133 promotes vesicles formation that convey regulating informations for the breast cancer microenvironment.

* Gisela D'Angelo (Curie Institute)

キーワード : CD133, Breast cancer, Microenvironment, angiogenesis

The spread of cancer cells from the primary tumor into surrounding tissues and metastasis to distant organs is the primary cause of cancer morbidity and mortality. Recent data suggest that cancer cells release extracellular vesicles (EVs), membranous nanocarriers containing proteins and genetic material, which may stimulate the invasion and dissemination of tumor cells to target cells. The invasive and metastatic character of several cancer types is associated with the presence of CD133, predicting poor outcomes in cancer patients. CD133 is among one the molecular signature of EVs. The major goal is to correlate the expression of CD133 in breast cancer cells, to EV secretion, and their EV-mediated invasive and metastatic properties with a long-term goal for the development of innovative EV-based therapeutic approaches.

EVs from two triple-negative breast cancer (TNBC) cell lines (MDA-MB-468 and MDA-MB-231) and one hormone-dependent cell line (MCF-7) were isolated by size exclusion chromatography (SEC) and ultracentrifugation (UC), characterized by immunoblotting, NTA, Macsplex, TEM, and IEM to evaluate their size, morphology, and composition.

The three cell lines secrete a heterogeneous population of EVs, consisting of large- (150-250nm) and small EVs (50-150nm), the latter being more abundant. Immunoblot analysis reveals the presence of EV-specific markers (CD9, CD81, CD63, Alix, Tsg101) and CD133 in both populations. However, expression levels are higher in MDA-MB-468-EVs. Moreover, in MDA-MB-468-EVs, CD9 and CD81/CD133 expressions are more abundant in large and small- EVs respectively.

Our results indicate that the expression of CD133 in EVs doesn't equally occur in all cell lines, suggesting that this may influence their metastatic capacity and tumor development. Moreover, our preliminary data indicate that TNBC-derived EVs, bearing CD133, promote branching and sprouting in endothelial cells, a key feature in cancer invasion compared with the positive control VEGF. We are currently evaluating in vitro the function of EVs on migration and on epithelial-mesenchymal transition (EMT), potentially related to the metastatic capacity of cancer cells.

10:00-10:30 (2023-06-28 09:00 - 11:30 | A会場)

S - D1 - A001 - 003

Digging into caveolae by lipid and protein interactions

* Kenichi G. N. Suzuki (iGCORE, Gifu Univ. | Natl. Cancer Ctr. Res. Inst. | Grad. Sch. Nat. Sci. Technol., Gifu Univ. | United Grad. Sch. Agr. Sci., Gifu Univ.), Toi Kawai (Grad. Sch. Nat. Sci. Technol., Gifu Univ.), Toshiki Mori (United Grad. Sch. Agr. Sci., Gifu Univ.), Koichiro M. Hirose (iGCORE, Gifu Univ.), Rinshi S. Kasai (iGCORE, Gifu Univ. | Natl. Cancer Ctr. Res. Inst.), Yasunari Yokota (Grad. Sch. Eng., Gifu Univ.)

キーワード : caveolae, rafts, GPI-anchored proteins, super-resolution microscopy

Caveolae are membrane invaginations that share a similar lipid composition with rafts. The enrichment of raft markers, such as GPI-anchored proteins and lipid-modified signaling molecules, in caveolae has been reported. However, these colocalizations were observed only after chemical fixation, which may induce the crosslinking. Therefore, the precise nature of these colocalizations remains elusive. To address this issue, we performed super-resolution microscopic observations of lipid-anchored molecules and caveolae at a high-speed in living cells. Quantitative analysis revealed that both protein-protein and lipid-lipid interactions are essential for facilitating the localization in caveolae. In this presentation, we will discuss the regulatory role of caveolae in membrane organization.

10:30-11:00 (2023-06-28 09:00 - 11:30 | A会場)

S - D1 - A001 - 004

Regulation of muscle membrane robustness by membrane remodelling factors BIN1 and dynamin 2

* Tetsuya Takeda (Okayama University, Faculty of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences)

キーワード : T-tubules, BIN1, Dynamin 2, Myopathy, Membrane remodelling

T-tubules are membrane invagination essential for excitation-contraction (E-C) coupling of skeletal and cardiac muscle cells. Dysfunction of T-tubules induces muscle weakness and atrophy leading to muscle disorders such as myopathy. Centronuclear myopathy (CNM) is a congenital myopathy caused by mutations in membrane remodelling proteins Dynamin-2 and BIN1. Skeletal muscles are subject to constant mechanical stresses due to repeated contraction and relaxation. However, CNM pathogenesis caused by defective membrane remodelling under mechanical stresses remained to be elucidated. In this study, we present our recent findings about the mechanical stress response of the T-tubule-like membrane invaginations induced by BIN1 overexpression in mouse myoblast C2C12 cells and discuss its contribution to CNM pathogenesis.

11:00-11:30 (2023-06-28 09:00 - 11:30 | A会場)

S - D1 - A001 - 005

Remote Control of Cell Signaling through Caveolae Mechanics

* Christophe LAMAZE (Institut Curie, Paris, France)

キーワード : mechanics, caveolae, signaling, mechano-transduction, trafficking

Caveolae are small invaginated nanodomains of the plasma membrane that have been classically involved in membrane trafficking and signaling. In 2011, we have established these multifunctional organelles as key mechano-sensors that adapt the cell response to variations in membrane tension induced by various types of mechanical stress¹. Here, we investigated the role of caveolae mechanics in the control of intracellular signaling pathways. Using state-of-the-art super resolution imaging in live cells combined with machine-learning network analysis, we show that in response to mechanical stress, caveolae disassemble into smaller scaffolds made of non-caveolar caveolin 1 (Cav-1) - which display increased mobility at the plasma membrane. Mechanical stress promoted the direct interaction of Cav-1 scaffolds with several signaling molecules, resulting in inhibition of their signaling output. Our results therefore establish a new paradigm in mechanotransduction whereby caveolae act as mechano-signaling hubs that couple the sensing of membrane tension variations to the remote control of intracellular signaling through the release of Cav-1 scaffolds actively diffusing at the plasma membrane.

1 : Sinha, B., D. Koster, R. Ruez, P. Gonnord, M. Bastiani, D. Abankwa, R.V. Stan, G. Butler-Browne, B. Vedie, L. Johannes, N. Morone, R.G. Parton, G. Raposo, P. Sens, C. Lamaze, and P. Nassoy. 2011. Cells respond to mechanical stress by rapid disassembly of caveolae. *Cell*. 144 : 402-413.

New directions in the role of cell adhesion in multicellular systems

2023/6/28 09:00 ~ 11:30 | B会場

座長 : Junichi Ikenouchi (Kyushu Univ.), Shizue Ohsawa (Nagoya Univ.)

Cell-cell adhesion and cell-substrate adhesion form the basis of multicellular organisms. This symposium will cover a wide range of related topics, from the fundamental mechanisms of adhesion formation to the role of cell adhesion in various biological contexts such as morphogenesis, aging and organ regeneration. In particular, we will discuss cutting-edge topics at the forefront of cell adhesion research, such as how cell adhesion specificity arises from the combination of cell adhesion molecules (adhesion code) and how remodeling of the cell adhesion or basement membrane controls cell fate.

S - D1 - B001 - 001

Cholesterol-rich domain formation mediated by ZO proteins is essential for tight junction formation

* Kenta Shigetomi (Department of Biology • Faculty of Science • Kyushu University), Yumiko Ono (Department of Biology • Faculty of Science • Kyushu University), Kenji Matsuzawa (Department of Biology • Faculty of Science • Kyushu University), Junichi Ikenouchi (Department of Biology • Faculty of Science • Kyushu University)

09:00-09:25

S - D1 - B001 - 002

Matrigel-free organoid culture system using a small molecule

* Tomoki Yano (Keio University)

09:25-09:50

S - D1 - B001 - 003

The role of paracellular diffusion barrier in the *Drosophila* intestinal and renal stem cell proliferation

* Yasushi Izumi (Div. of Cell Structure, NIPS | Dept. of Physiol. Sci., Sch. of Life Sci., SOKENDAI), Mikio Furuse (Div. of Cell Structure, NIPS | Dept. of Physiol. Sci., Sch. of Life Sci., SOKENDAI)

09:50-10:15

S - D1 - B001 - 004

Mechanism of junctional remodeling during cell rearrangement

* Keisuke Ikawa (Department of Science, Nagoya University)

10:15-10:40

S - D1 - B001 - 005

Molecular codes for olfactory circuit formation

* Haruki Takeuchi (Graduate School of Science, The University of Tokyo)

10:40-11:05

S - D1 - B001 - 006

The age-associated decline of epidermal stem cell motility

* Daisuke Nanba (The Institute of Medical Science, The University of Tokyo)

11:05-11:30

Cholesterol-rich domain formation mediated by ZO proteins is essential for tight junction formation

* Kenta Shigetomi (Department of Biology • Faculty of Science • Kyushu University), Yumiko Ono (Department of Biology • Faculty of Science • Kyushu University), Kenji Matsuzawa (Department of Biology • Faculty of Science • Kyushu University), Junichi Ikenouchi (Department of Biology • Faculty of Science • Kyushu University)

キーワード : Tight junction, Cholesterol, Cell adhesion, Cytoskeleton

Epithelial cells adhere to each other through several distinct cell adhesion structures that together are called Apical Junctional Complexes (AJCs). Among them, Tight Junctions (TJs) are the most apical cell adhesion structures in epithelial cells and are responsible for the barrier function of the epithelial cell sheet. We had reported that TJs require the presence of a lipid domain enriched in cholesterol and sphingomyelin containing very long-chain fatty acids [K. Shigetomi, Y. Ono, T. Inai, J. Ikenouchi, *J. Cell Biol.* 217, 2373-2381 (2018)]. However, it remained unclear whether the accumulation of these lipids was actively involved in TJ formation or whether lipid accumulation was secondary to the accumulation of the TJ adhesion molecule, claudins.

In this study, we established an epithelial cell line (claudin-null cells) that lacks TJs by knocking out all expressed claudin isoforms to analyze how cholesterol accumulation is affected by the loss of TJs. First, we confirmed that TJs were structurally and functionally absent in claudin-null cells. Next, we examined changes in the cholesterol distribution in claudin-null cells. Surprisingly, we found that cholesterol is enriched at AJCs despite the lack of TJs in claudin-null cells. Polymerization of claudins at TJs is thought to require binding to zonula occludens (ZO) proteins but a claudin mutant that cannot bind to ZO proteins still formed TJ strands. ZO proteins were however necessary for cholesterol accumulation at the AJCs through their effect on the junctional actomyosin cytoskeleton. We propose that ZO proteins not only function as scaffolds for claudins but also promote TJ formation by informing the establishment of cholesterol-rich membrane domains at the AJCs.

Matrigel-free organoid culture system using a small molecule

* Tomoki Yano (Keio University)

キーワード : epithelial cell, organoid culture, niche factors, extracellular matrix

Epithelial tissue organoids are cell clusters that can be cultured in vitro in 3D, while maintaining the structural and phenotypic characteristics of epithelial tissue. The fundamental factor for survival of the organoids is the interaction between the epithelial cells and the extracellular matrix (ECM). Most types of ECM used for organoid culture are based on Matrigel, derived from the mouse Engelbreth-Holm-Swarm (EHS) sarcoma. However, the cancer origin of Matrigel precludes the use of conventionally cultured organoids for regenerative medicine. To facilitate the clinical translation of organoids, we developed Matrigel-free organoid culture system using a small molecule inhibitor. In this symposium, we would like to present the details of this culture system.

09:50-10:15 (2023-06-28 09:00 - 11:30 | B会場)

S - D1 - B001 - 003

The role of paracellular diffusion barrier in the *Drosophila* intestinal and renal stem cell proliferation

* Yasushi Izumi (Div. of Cell Structure, NIPS | Dept. of Physiol. Sci., Sch. of Life Sci., SOKENDAI), Mikio Furuse (Div. of Cell Structure, NIPS | Dept. of Physiol. Sci., Sch. of Life Sci., SOKENDAI)

キーワード : paracellular barrier, stem cell, intestinal epithelia, tissue homeostasis, *Drosophila*

The intestinal epithelium is often damaged by exposure to food-derived harmful substances, microbial contaminants, and digestive enzymes. The damaged epithelial cells are continuously repaired through stem cell proliferation and differentiation. This prevents disruption of intestinal homeostasis caused by epithelial barrier dysfunction. The mechanism underlying the regulation of stem cell proliferation and differentiation involves complicated intracellular signaling networks. However, much remains unknown about this system. We have studied smooth septate junctions (sSJs), cell-cell junctions that act as a paracellular diffusion barrier in the *Drosophila* intestinal epithelium, and identified four sSJ-associated membrane proteins, Ssk, Mesh Tsp2A, and Hoka, all of which are essential for SJ organization and intestinal barrier function (Izumi et al. 2012, 2016, 2021). We found that depletion of sSJ-proteins from the adult intestine results in stem cell overproliferation accompanied by epithelial tumors, which is associated with activation of the cell polarity protein aPKC and the Hippo transcriptional co-activator Yorkie in the enterocytes and the MAPK and Jak-Stat pathways in the stem cells (Izumi et al. 2019, 2021). We recently found that depletion of sSJ-proteins from renal/Malpighian tubule epithelial cells leads to activation of renal stem cell proliferation. Interestingly, the mechanism involved in the activation of stem cell proliferation by sSJ-protein depletion appears to be different between intestinal and renal stem cells, although these two cell types share a common origin. Taken together, we suggest that the intestine and renal tubules each have a unique epithelial renewal mechanism that detects the paracellular barrier dysfunction and activates the stem cell proliferation in *Drosophila*.

10:15-10:40 (2023-06-28 09:00 - 11:30 | B会場)

S - D1 - B001 - 004

Mechanism of junctional remodeling during cell rearrangement

* Keisuke Ikawa (Department of Science, Nagoya University)

キーワード : adherence junction, myosin-II cable, tricellular junction

Cell rearrangement proceeds in three steps : the shrinkage of a junction, exchange of junctions, and elongation of the newly generated junction. Here, we showed that the formation of myosin-II (myo-II) cables around the cell vertices underlies the exchange of junctions. The local and transient detachment of myo-II from the cell cortex is regulated by adherence junction protein Jub and the tricellular septate junction protein M6. Furthermore, we developed a mechanical model based on the wetting theory and clarified the physical properties of myo-II cables are integrated with the junction geometry to support the unidirectionality of cell rearrangement. Collectively, the present study elucidates the orchestration of geometry, mechanics and signaling for exchanging junctions.

10:40-11:05 (2023-06-28 09:00 - 11:30 | B会場)

S - D1 - B001 - 005

Molecular codes for olfactory circuit formation

* Haruki Takeuchi (Graduate School of Science, The University of Tokyo)

キーワード : neural circuit formation, neural plasticity, cell adhesion molecule, olfaction, combinatorial code

The development of neural circuits is initially directed by genetic programming and subsequently refined by electrical neural activity. The most prevailing model for the activity-dependent development of neural circuits is Hebbian plasticity, which assumes the interaction pre- and post-synaptic interactions. However, the olfactory map develops even in mutant mice lacking synaptic partners, suggesting another mechanism for the olfactory map formation. During development, axons from various olfactory neurons expressing the same olfactory receptor (OR) segregate into specific glomeruli. It has been shown that ORs regulate various kinds of cell adhesion molecules to generate the combinatorial molecular code for olfactory circuit formation. Here, I will discuss how neural activity is involved.

The age-associated decline of epidermal stem cell motility

* Daisuke Nanba (The Institute of Medical Science, The University of Tokyo)

キーワード : Cell motility, Stem cells, Skin, Aging, Wound healing

Skin regenerative capacity declines with age. Here we demonstrate a functional link between EGFR signaling and cell surface proteolysis of type XVII collagen (COL17A1) on age-associated alteration of keratinocyte motility. Receptor tyrosine kinase array identified the age-associated decline of EGFR signaling in mouse skin wound healing. Culture experiments proved that EGFR activation drives human keratinocyte stem cell motility with an increase of COL17A1 by inhibiting its proteolysis through the secretion of TIMP1. Intriguingly, COL17A1 directly regulated keratinocyte stem cell motility and collective cell migration by coordinating actin and keratin filament networks. We conclude that EGFR-COL17A1 axis-mediated keratinocyte stem cell motility drives epidermal regeneration.

メカノバイオロジー研究で迫る細胞 - 微小環境の相互作用

2023/6/28 09:00 ~ 11:30 | C会場

座長：木岡紀幸（京都大学大学院農学研究科）、山城佐和子（京都大学大学院生命科学研究科）

細胞を取り巻く微小環境は、細胞の運動性、形態、増殖、分化決定など、様々な細胞機能を制御する重要な要素であるとともに、生体においては組織の生理機能やがんなどの疾患と関連する。本シンポジウムでは、細胞が微小環境の力学的情報を感知・伝達・応答するメカニズムに注目し、細胞外環境を再現する培養細胞システム、定量イメージング、細胞工学技術等を駆使した、メカノバイオロジー研究者による最新の研究を紹介する。

S - D1 - C001 - 001

Force transmission via the elastic transient clutch of Talin

* 山城 佐和子 (京都大学医学研究科 神経・細胞薬理学教室), David M. Rutkowski (Department of Physics, Lehigh University, Bethlehem, PA, USA), Kelli Ann Lynch (University of South Florida, Tampa, FL, USA), Dimitrios Vavylonis (Department of Physics, Lehigh University, Bethlehem, PA, USA), 渡邊直樹 (京都大学医学研究科 神経・細胞薬理学教室)

09:00-09:25

S - D1 - C001 - 002

ストレスファイバーの張力恒常性と老化

* 出口 真次 (大阪大学), Pirawan Chantachotikul (大阪大学), 松元 瑛司 (大阪大学)

09:25-09:50

S - D1 - C001 - 003

神経細胞の移動を担う先導突起伸長の力学機構及び細胞膜張力の増加に応答した細胞体前進機構

* 嶺岸 卓徳 (奈良先端科学技術大学院大学, 先端科学技術研究科, バイオサイエンス領域, 神経システム生物学), 長谷部 帆南 (奈良先端科学技術大学院大学, 先端科学技術研究科, バイオサイエンス領域, 神経システム生物学), 青山 友耶 (金沢大学ナノ生命科学研究所), 成瀬恵治 (岡山大学大学院, 医歯薬学総合研究科, システム生理学), 高橋康史 (名古屋大学大学院, 工学研究科, 電子工学専攻, 情報デバイス工学), 稲垣 直之 (奈良先端科学技術大学院大学, 先端科学技術研究科, バイオサイエンス領域, 神経システム生物学)

09:50-10:15

S - D1 - C001 - 004

血管内皮細胞のメカノセンシング機構に果たす細胞膜とミトコンドリアの役割

* 山本 希美子 (東京大学・大学院医学系研究科)

10:15-10:40

S - D1 - C001 - 005

核内クロマチンを介した力感知機構の理解に向けて

* 牧 功一郎 (京都大学 医生物学研究所)

10:40-11:05

S - D1 - C001 - 006

ピンキュリンの構造変化を軸とするメカノトランスダクション

* 黒田 美都 (京都大院・農学・応用生命), 松山 大輝 (京都大院・農学・応用生命), 木岡 紀幸 (京都大院・農学・応用生命)

11:05-11:30

Force transmission via the elastic transient clutch of Talin

* 山城 佐和子 (京都大学医学研究科 神経・細胞薬理学教室), David M. Rutkowski (Department of Physics, Lehigh University, Bethlehem, PA, USA), Kelli Ann Lynch (University of South Florida, Tampa, FL, USA), Dimitrios Vavylonis (Department of Physics, Lehigh University, Bethlehem, PA, USA), 渡邊直樹 (京都大学医学研究科 神経・細胞薬理学教室)

キーワード: フォーカルアドヒジョン, アクチン線維流動, 細胞内蛍光1分子顕微鏡, Talin, シミュレーション

Focal adhesions (FAs) are responsible for force transmission to ECM. Talin is an essential FA protein that links F-actin to integrins. F-actin constantly moves on FAs, yet how Talin simultaneously maintains the connection to F-actin and transmits forces to integrins remains unclear. Here we address this issue by using Single-Molecule Speckle microscopy. We reveal that the majority of Talin molecules are bound only to either the actin network or the substrate whereas a small portion of Talin is linked to both structures via elastic transient clutch. By reconstituting Talin knockdown cells with Talin chimeric mutants, we show that unfolding of the Talin rod subdomains is critical for force transmission. Our findings provide new insights into the force transmission of actin flow to ECM.

ストレスファイバーの張力恒常性と老化

* 出口 真次 (大阪大学), Pirawan Chantachotikul (大阪大学), 松元 瑛司 (大阪大学)

キーワード: メカノバイオロジー, 張力恒常性, 力学的適応, 老化, ストレスファイバー

線維芽細胞など、細胞増殖能を有した間葉系細胞には普遍的に張力恒常性という性質が備わっている。これは細胞が支える張力を一定に保つ機能である。これにより細胞にメカニカルストレスが加わって一時的に張力レベルが変動したとしても適応的に元の基準レベルへ戻ることができる。メカニカルストレスの負荷は JNK など炎症促進シグナルを活性化する。従って、張力レベルを一定に保つ張力恒常性は、炎症促進シグナルを基準レベルに保つ恒常性の根幹にもなっている。このように張力恒常性は細胞の基本状態を保つ役割を果たしているものの、そもそも細胞生物学者にとって細胞の張力を観察する機会が少ないこと、また、そのメカニズムにはシグナル分子の関与だけでなく物理が密接に関わる学際問題であることから、その重要性は見過されがちである。ストレスファイバーは張力恒常性の研究材料として扱いやすいために、我々はこれを主たる研究対象にしてきた (例: Ueda et al., Sci Rep 2022; Li et al., Commun Biol 2022; Liu et al. Mol Biol Cell 2022; Saito et al., Biophys J 2022; Kang et al., Mol Biol Cell 2021; Huang et al., Am J Phys Cell Phys 2021; Fujiwara et al., J Cell Sci 2020; Kang et al., FASEB J 2020)。これらの研究で用いる手法は、分子生物学・プロテオミクス・イメージングなどの細胞生物学の従来技術に加えて、熱力学・統計力学・システム論に基づく理論解析や機械学習など多岐に渡るが、研究の主題は一貫して張力恒常性のメカニズムの理解である。本発表ではストレスファイバーの老化を含めて最近の研究を紹介したい。

神経細胞の移動を担う先導突起伸長の力学機構及び細胞膜張力の増加に応答した細胞体前進機構

* 嶺岸 卓徳 (奈良先端科学技術大学院大学, 先端科学技術研究科, バイオサイエンス領域, 神経システム生物学), 長谷部 帆南 (奈良先端科学技術大学院大学, 先端科学技術研究科, バイオサイエンス領域, 神経システム生物学), 青山 友耶 (金沢大学ナノ生命科学研究所), 成瀬恵治 (岡山大学大学院, 医歯薬学総合研究科, システム生理学), 高橋康史 (名古屋大学大学院, 工学研究科, 電子工学専攻, 情報デバイス工学), 稲垣 直之 (奈良先端科学技術大学院大学, 先端科学技術研究科, バイオサイエンス領域, 神経システム生物学)

キーワード: 神経細胞移動, 細胞膜張力, アクトミオシン, Ca²⁺ transient, 牽引力

神経細胞の移動は脳や神経回路の形成に必須であり、神経細胞は先導突起の伸長と細胞体の前進を繰り返すことで移動する。これまでに、細胞体が前進するには一過的な細胞内 Ca²⁺ 濃度上昇 (Ca²⁺ transient) が起こること、また、Ca²⁺ シグナリングを介して発生したアクトミオシンの収縮力が細胞体の前進を駆動することが報告されている。一方、先導突起の伸長を駆動する力とその力を生み出す分子機構は不明で、先導突起の伸長が細胞体の前進を誘導する機構もよく解っていない。我々は、牽引力顕微鏡法により神経細胞の移動を解析し、先導突起先端の成長円錐で発生する牽引力が先導突起の伸長を駆動することを明らかにした。成長円錐内では重合・脱重合を繰り返すアクチン線維が逆行性移動することが知られている。我々は一分子計測等の解析を行い、Shootin1 が細胞接着分子 L1 との相互作用を通して逆行性移動するアクチン線維と細胞外基質を連結 (クラッチ連結) することを見出した。さらに、クラッチ連結が逆行性移動の力を基質に伝えることで牽引力が発生することが解った。次に、先導突起の伸長が細胞体の前進を誘導する機構の解明を目指した。走査型イオン伝導顕微鏡等を用いた解析により、先導突起の伸長が細胞膜張力を増加させることを見出した。また、Ca²⁺ イメージング等の解析より、先導突起伸長に応答した機械受容チャネル Tmem63b が Ca²⁺ transient の発生と細胞体前進を駆動するアクトミオシンの活性化に関与することを見出した。以上の結果から、1) クラッチ連結により発生した牽引力が先導突起を伸長させること、2) 先導突起の伸長により細胞膜張力が増加すること、3) 膜張力増加に応答して発生したアクトミオシンの収縮力が細胞体前進を駆動することが解り、神経細胞はこれら3つの力学的ステップからなるサイクルを通して移動することが示唆された。

血管内皮細胞のメカノセンシング機構に果たす細胞膜とミトコンドリアの役割

* 山本 希美子 (東京大学・大学院医学系研究科)

キーワード: 血管内皮細胞, せん断応力, 形質膜, コレステロール, ミトコンドリア

血管内皮細胞 (EC) は剪断応力や伸展張力などの血行動態の変化に応じて機能を変化させることにより、循環系の恒常性を維持している。しかし、EC が剪断応力や張力の変化をそれぞれの様に区別して感知し、細胞内の生化学的なシグナルに変換するのは不明であった。最近、EC の細胞膜は、剪断応力や張力に対して、膜流動性や脂質分子の配向性、コレステロール含量が異なる変化を示すことが明らかになった。また、人工脂質二重膜でも剪断応力や張力に対して、EC と同様の変化が見られたことから、生体反応というよりは物理現象であることが示された。機械的な力は、まず細胞膜の物理的な性質を変化させる。この様な膜の物性変化は、膜受容体の活性化を引き起こし、それぞれの力に特異的な細胞応答を引き起こす。具体的には、ミトコンドリアの ATP 産生や ATP 作動性 Ca^{2+} シグナリングなど、細胞内シグナル伝達経路を活性化した。コレステロールバイオセンサーと蛍光共鳴エネルギー移動型 ATP バイオセンサーを用いた最新のイメージング技術により、ミトコンドリア ATP 産生が細胞膜コレステロール依存的なミトコンドリア酸化的リン酸化を介することが明らかになった。さらに、ミトコンドリアの ATP 産生の増加は、EC からの ATP 放出をもたらす、細胞膜のプリン受容体を活性化し、剪断応力に応答する Ca^{2+} シグナリングが惹起された。これらの知見は、EC の細胞膜が機械的な力に応答するメカノセンサーとして働くことを示唆し、細胞膜をメカノセンサーとして捉えることは、様々な膜タンパク質と複数のシグナル伝達経路をほぼ同時に活性化する EC のメカノトランスダクションの特徴の説明につながると考えられる。

核内クロマチンを介した力感知機構の理解に向けて

* 牧 功一郎 (京都大学 医生物学研究所)

キーワード: メカノトランスダクション, クロマチン, 静水圧

細胞は、メカノトランスダクション (力学刺激を細胞内の生化学的なシグナルに変換する過程) を通じ、力学刺激を感知する。本研究では、メカノトランスダクションを介した遺伝子発現変化を解明することを目指し、核内クロマチンの力学的挙動に着目した。近年、核内クロマチンの高次構造が力学刺激のもとで変化し、遺伝子転写を調節することが示唆されており、そのメカノセンサーとしての機能が注目されている。我々は、静水圧が軟骨細胞のクロマチンおよび遺伝子発現に与える影響を明らかにすることを目的とした。

本研究では、マウス細胞由来の軟骨細胞に対して、静水圧を周期的に負荷した。さらに、細胞核自体の変形およびヒストン修飾状態の変化を検討した。軟骨細胞に対して周期的な静水圧を負荷した結果、細胞核の収縮とヒストンメチル化状態の変化をともなうクロマチンの構造変化が生じることが示された。リアルタイムイメージングにおいても細胞核の収縮が確認された。さらに、静水圧負荷のもとで DNA 複製が抑制されることが EdU ラベリングにより示され、p21 などのマーカーに関しても PCR による解析を実施した結果、静水圧負荷により軟骨細胞が静止期に移行することが示された。さらに、複製・転写の抑制にともなう損傷 DNA の減少により、軟骨基質をタンパク質レベルで分解する経路が阻害されることが示された。これらのことから、静水圧作用下において、クロマチン構造変化を介した静止期移行が生じ、軟骨基質の発現が促進されるメカニズムが示唆された。

本講演では、さらにクロマチンを介した力感知機構に関してさらなる上流のメカニズムの理解を目指した新しい試みについても紹介する予定である。

ビンキュリンの構造変化を軸とするメカノトランスダクション

* 黒田 美都 (京都大院・農学・応用生命), 松山 大輝 (京都大院・農学・応用生命), 木岡 紀幸 (京都大院・農学・応用生命)

キーワード: ビンキュリン, メカノトランスダクション, 間葉系幹細胞, 細胞分化, 原子間力顕微鏡

間葉系幹細胞は細胞外基質 (ECM) の硬さによって分化方向性が制御されている。例えば間葉系幹細胞を軟らかい ECM 上で培養した場合、脂肪細胞へ分化しやすくなる。細胞は細胞と細胞外基質との接点である接着斑 (FA) を介して、ECM を引っ張ることで ECM の硬さ情報を感じ取っている。ゆえに、ECM 受容体であるインテグリンとアクチン細胞骨格をつなぐ FA タンパク質がメカノセンサーであるとして盛んに研究されてきた。しかしながら、これら FA タンパク質が間葉系幹細胞において分化を調節するメカニズムとして働くかどうかは不明であった。

我々は、硬さ可変の細胞培養基板を用いて、ビンキュリンが硬い ECM 上での脂肪細胞分化を抑制していることを明らかにし、その分子機構について調べた。その結果、ビンキュリンの構造変化が起点となって下流のシグナル伝達を調節していることや、ビンキュリンの構造変化に必要な SORBS タンパク質の役割が明らかになった。本発表では、ビンキュリンの構造変化を軸にしたメカノトランスダクションについて議論するとともに、高速原子間力顕微鏡を用いたビンキュリンの構造変化解析に関する最新の知見についても紹介したい。

プロテオスタシス研究から明らかにされる老化の本質とその制御法

2023/6/28 09:00 ~ 11:30 | D会場

座長：高杉 征樹 (大阪公立大学医学研究科)、中村 修平 (大阪大学大学院生命機能研究科)

【共催】学術変革領域研究 (B) [ポストリソソーム]

老化の主因の一つとしてプロテオスタシスの破綻が長く提唱されているが、哺乳動物における両者の関係性は近年まで十分に解析されてこなかった。一方で最近、オートファジー・リソソーム系の加齢変化が哺乳動物の老化に深く関わっているだけでなく、これらを標的とした老化制御法の開発が可能である事を示唆する結果が我が国から相次いで報告されている。プロテアソームや小胞体ストレス応答についても哺乳動物の老化との関わりが精力的に調べられつつあり、本シンポジウムではこれらのトピックを包括的に取り上げ、各演題の強固なつながりの中から深い議論を生じさせる事を狙いとする。

S - D1 - D001 - 001

Mouse aging proteomic atlas - 主要組織の包括的解析から見た老化プロテオームの特徴について

* 高杉 征樹 (大阪公立大学大学院医学研究科)、武村 和明 (大阪公立大学大学院医学研究科)、吉田 優矢 (大阪公立大学大学院医学研究科)、大谷 直子 (大阪公立大学大学院医学研究科)

09:00-09:30

S - D1 - D001 - 002

ユビキチンリガーゼ LONRF2 による変性タンパク質分解を介したプロテオスタシス制御

* 城村由和 (金沢大学がん進展制御研究所 がん・老化生物学研究分野)

09:30-10:00

S - D1 - D001 - 003

細胞老化に伴う新規プロテアソーム核内 foci の形成によるミトコンドリア活性の抑制

* 濱崎 純 (東京大学大学院薬学系研究科 蛋白質代謝学教室)、村田 茂穂 (東京大学大学院薬学系研究科 蛋白質代謝学教室)

10:00-10:30

S - D1 - D001 - 004

細胞老化におけるリソソームストレスと老化細胞除去治療

* 須田 将吉 (順天堂大学循環器内科 メイヨークリニック)、勝海悟郎 (順天堂大学循環器内科)、南野 徹 (順天堂大学循環器内科)

10:30-11:00

S - D1 - D001 - 005

リソソーム恒常性維持の分子機構と老化における役割

* 中村修平 (大阪大学 高等共創研究院)

11:00-11:30

Mouse aging proteomic atlas - 主要組織の包括的解析から見た老化プロテオームの特徴について

* 高杉 征樹 (大阪公立大学大学院医学研究科), 武村 和明 (大阪公立大学大学院医学研究科), 吉田 優矢 (大阪公立大学大学院医学研究科), 大谷 直子 (大阪公立大学大学院医学研究科)

キーワード: 老化, プロテオーム, 細胞外マトリックス, ミトコンドリア, データベース

社会の高齢化が進む中で、健康長寿の実現のために老化のメカニズムを解明する事が強く求められている。これまで、オートファジーなどのプロテオスタシス制御機構の加齢変化が老化に重要な役割を果たす事が相次いで報告されてきており、現在プロテオスタシスの破綻は老化の主要な原因の一つであると考えられている。しかし、それにも関わらず、主要な哺乳動物モデルであるマウスのプロテオームが加齢に伴ってどのように変化するのかという、老化とプロテオスタシスの関係性を考える上でも基盤となるはずの情報についてはこれまでほとんど調べられてこなかった。我々は今回、マウスの主要8組織の全組織ライセートと難溶性タンパク濃縮画分について、そのプロテオームが成熟後、中齢、高齢、超高齢へと至る過程でどのように変化するかを定量プロテオミクスにより解析し、組織を跨いで認められる老化プロテオームの特徴を明らかにする事に成功した。さらに同じサンプルからトランスクリプトームデータを取得し、これとプロテオームデータを組み合わせる事で転写後の調節に起因する加齢変化を示す遺伝子群の特徴を明らかにする事にも成功した。これらのデータは mouse aging proteomic atlas と名付けた web ツールを通じて容易に利用できる形で公開する予定であり、老化とプロテオスタシスの関係性を理解していくためのリソースとなる事が期待される。

ユビキチンリガーゼ LONRF2 による変性タンパク質分解を介したプロテオスタシス制御

* 城村由和 (金沢大学がん進展制御研究所 がん・老化生物学研究分野)

キーワード: ユビキチンリガーゼ, 変性タンパク質, 細胞老化, 神経変性疾患

近年、タンパク質の品質管理・恒常性維持機構、いわゆる『プロテオスタシス』の破綻が個体老化や様々な疾患の原因となっていることが明らかになりつつある。例えば、アルツハイマー病や加齢に伴う神経変性症の一部は、脳内の異常なタンパク質の蓄積が原因であると考えられている。また、個体老化や加齢関連疾患の主要因の一つであることが分かった細胞老化においても、タンパク質の凝集体が非常に多く蓄積していることが明らかになってきている。このように、プロテオスタシス破綻に伴う変性した異常タンパク質の蓄積が個体老化・加齢関連疾患発症の鍵の一つであることは間違いないが、なぜ加齢に伴いプロテオスタシス機能が低下するのかについては不明な点が多い。

我々は、個体老化・加齢関連疾患発症プロセスに関わるプロテオスタシス制御機構を研究する上で老化細胞は有効な解析システムになりうると考え、老化細胞の安定的な長期培養系を用いた網羅的遺伝子発現解析を行った結果、発現が上昇するプロテオスタシス制御関連遺伝子の一つにユビキチンリガーゼをコードしている LONRF2 が含まれていた。興味深いことに、LONRF2 は様々な変性タンパク質を選択的にユビキチン化し、分解する機能を有することが分かってきた。本発表では、この LONRF2 が老化、特に加齢に伴う神経変性とどのように関わるのかについて最新の解析データを中心について議論する。

細胞老化に伴う新規プロテアソーム核内 foci の形成によるミトコンドリア活性の抑制

* 濱崎 純 (東京大学大学院薬学系研究科 蛋白質代謝学教室), 村田 茂穂 (東京大学大学院薬学系研究科 蛋白質代謝学教室)

キーワード: 細胞老化, プロテアソーム, ユビキチン

プロテアソームはユビキチン化タンパク質分解によって細胞周期や蛋白質恒常性維持機構など様々な生理的機能に必須の役割を果たす。プロテアソーム活性は加齢に伴い低下することが知られ、細胞老化や個体老化との密接な関係が示唆されるものの、老化に対するプロテアソームの具体的な役割は不明であった。今回、我々は老化細胞においてプロテアソームを含む液滴状の新規核内 Foci が形成されることを見出し senescence-associated nuclear proteasome foci (SANPs) と命名した。SANPs の形成はプロテアソーム活性、ユビキチン化、RAD23B 依存的であることが確認された。そこで、我々は SANPs が核内タンパク質の分解場所として機能すると考え、SANPs の分解基質となりうるタンパク質の同定および SANPs が老化細胞プロテオームに与える影響を検証するため、Tandem Mass Tag (TMT) System を用いた定量質量分析解析を行った。その結果、老化細胞での SANPs 形成阻害によるミトコンドリア関連タンパク質の増加が示され、SANPs は老化細胞におけるミトコンドリア活性の亢進および Reactive Oxygen Species (ROS) 産生の抑制に働くことが明らかとなった。これらの結果から、SANPs はプロテアソームが老化を抑制するための新たなメカニズムと考え、生物学的役割の解明を目指している。

細胞老化におけるリソソームストレスと老化細胞除去治療

* 須田 将吉 (順天堂大学循環器内科 メイヨークリニック), 勝海悟郎 (順天堂大学循環器内科), 南野 徹 (順天堂大学循環器内科)

キーワード: 細胞老化, 老化細胞除去治療, リソソーム, ミトファジー

加齢により発症が増加する疾患の原因には細胞老化が関与していることが明らかとなってきた。我々は老化細胞において特異的に発現が増加する分子として、GPNMBを同定した。GPNMBはリソソームストレスに応答し発現が増加し、リソソームのプロトンポンプであるV-ATPaseと結合することで、リソソームの酸性化に関与する分子であることがわかった。GPNMBの発現を抑制すると、リソソームのpHが上昇し、オートファジー、特にミトファジーが阻害され、ミトコンドリア活性酸素が細胞内で上昇した。その結果、細胞は老化様の表現型を示し、分裂寿命が低下するした。一方、GPNMBを強制発現させると、細胞老化が抑制されたことから、GPNMBによるリソソームストレスの制御は細胞老化において重要なメカニズムであることが明らかとなった。さらに、GPNMBは老齢マウスの各組織で発現が上昇してだけでなく、肥満マウスの脂肪組織や動脈硬化モデルマウスの大動脈などでも発現が上昇していることがわかった。そこでGPNMB欠損マウスと過剰発現マウスを作成し、GPNMBによるリソソームストレス制御の疾患への関与について検討をおこなった。GPNMB欠損マウスでは血管機能の低下や動脈硬化の悪化を認めたのに対し、GPNMB過剰発現マウスではこれらの症状が軽減することがわかった。近年、老化細胞除去治療が新しい細胞老化の制御方法として提唱されている。そこでGPNMBが老化細胞除去治療の標的として有用かどうかを検討するため、GPNMBのプロモーターの下流にジフテリア毒素受容体を発現させたマウスを作成した。このマウスに肥満や動脈硬化を誘導し、ジフテリア毒素によりGPNMB陽性細胞を取り除くと、病態が改善することがわかった。これらのことから老化細胞におけるリソソームストレス制御は老化や加齢関連疾患の治療に有用である可能性が示唆された。

リソソーム恒常性維持の分子機構と老化における役割

* 中村修平 (大阪大学 高等共創研究院)

キーワード: リソソーム, 老化, オートファジー

リソソームは内部に多種の消化酵素をもつ酸性のオルガネラで、オートファジーやエンドサイトーシスによるプロテオスタシス制御の中心的な役割を果たすが、その恒常性維持機構についてはあまりよく分かっていない。リソソームはエンドサイトーシスにより取り込まれた結晶物、シリカ、脂質、細菌、毒素、アミロイドタンパク質などの多様な物質や細胞内で生じるROS等によって頻りに膜が損傷を受けていることが分かっている。リソソームが損傷を受けると、酸性の内容物が漏出し、これが酸化ストレス、炎症や細胞死などにつながるため、損傷を受けたリソソームは細胞にとって有害な存在となり、リソソーム損傷を伴う疾患や老化への関与も示唆されている。細胞がこれにどう対処しているか長らく不明であったが、我々を含めた最近の研究から、リソソームが損傷を受けると細胞は膜を修復して損傷箇所を防ぐ(修復)、損傷したリソソームを細胞内分解システムであるオートファジー(リソファジーと呼ぶ)により隔離分解する(分解)、あるいは新しくリソソームを作る(新生)という大きく3つの応答経路で対処することが分かりつつある。これらは「リソソーム損傷応答(lysosomal damage responses)」と総称され、リソソーム恒常性を維持する新たな機構として注目を集めている。本シンポジウムでは、我々の最近の解析から明らかとなってきた本応答経路の分子機構と老化における役割について紹介したい。

株式会社エビデント

12:15-12:30 (2023-06-28 12:15 - 13:15 | A 会場)

L - D1 - A001 - 001

研究の信頼性と効率の向上に貢献する EVIDENT 対物レンズ

* 藤田 祐崇 (株式会社エビデント 開発部門 光学開発)

キーワード: 超解像イメージング, 超解像顕微鏡, 蛍光観察, 蛍光顕微鏡, 共焦点顕微鏡

対物レンズは顕微鏡システムの光学性能を決める重要な要素となります。現在、200種類以上の対物レンズが存在し、対物レンズの持つ光学性能を正しく理解し、研究用途に応じて最適な対物レンズを選択することが重要となります。

本セミナーでは EVIDENT の製造技術革新により 3つの光学性能「開口数 (NA)」、「フラットネス」、「色収差補整」の全てを飛躍的に向上させ、研究の信頼性と効率の向上に大きく貢献する X Line ,A Line について紹介致します。

12:30-13:15 (2023-06-28 12:15 - 13:15 | A 会場)

L - D1 - A001 - 002

先進的光学顕微鏡と超解像顕微鏡によって明らかになった、体の左右軸を決定するノード不動繊毛の生物物理的メカニズム

* 加藤 孝信 (東京大学大学院 医学系研究科 細胞生物学教室)

キーワード: 超解像顕微鏡, メカノバイオロジー, 左右軸決定, 一次繊毛, 光ピンセット

どのように細胞は細胞外の力学的環境をセンスして、生命機能を制御するのだろうか。その一例として本セミナーでは、体の左右軸決定をつかさどる力学的なシグナルの研究を使用した光学顕微鏡技術と共に紹介する。

なぜ私たちの心臓は左側にあるのだろうか？

受精卵は発生が進むとともに前後・背腹・左右の 3 軸を獲得し、非対称な体を形作る。とくに、マウスの場合は受精後 7.5 日目に左右の対称性が破られる。そのメカニズムとして、初期胚のノードという部位で左向きノード流という流れが生じ、その流れの向き依存的にノード不動繊毛 (一次繊毛) が左側を決めるシグナル (Lefty など) を活性化することで左右軸を決定することが知られる。しかし、ノード不動繊毛がどのようにノード流を感知し、なぜ左側だけで活性化するのは未解明であり、特にメカノセンシング仮説とケモセンシング仮説で論争が起きていた。

我々は独自の光学顕微鏡を駆使することにより、メカノセンシング仮説を強く支持する結果を得た。まず、ノード流を光制御しながら繊毛をライブ高解像度撮影する技術を開発し、ノード不動繊毛が流れにより物理的な曲げ変形を受けていることを明らかにした。さらに光ピンセットというレーザー光を用いた顕微操作技術によって、ノード不動繊毛が力学的な刺激によって活性化することを明らかにした。最後に超解像顕微鏡を用いてノード不動繊毛に局在するチャンネルの分布を詳細に解析することによって、ノード不動繊毛が「曲げられる向き」を感知できる特別なメカノセンサーであることを発見し、左向きノード流によって左側の不動繊毛のみが活性化されることを説明した。

ライカマイクロシステムズ株式会社

12:15-12:45 (2023-06-28 12:15 - 13:15 | D会場)

L - D1 - D001 - 001

細胞生物学における、2つの次世代イメージング技術のご提案

* 波田野 俊之 (ライカマイクロシステムズ株式会社)

近年、細胞生物学では 1) オルガネラ膜内外を識別できる超解像度の局在データや、2) 局在だけでなく分子機構の手掛かりとなるデータもより求められています。超解像度イメージングは敷居が高い、局在と分子機構を繋ぐ実験手法が限られているなどの難点がありました。今回ご紹介する、ライカマイクロシステムズの超解像度技術 STELLARIS は、1) 超解像かつライブイメージングを、従来の共焦点顕微鏡と同程度の操作感で実現可能にし、2) 新たな切り口である蛍光寿命イメージング技術を手軽にご利用頂ける形にし、機能イメージング (分子間相互作用、pH 変化、DNA 凝集など) を身近にしました。より精密な分子の局在解明から、分子機構の理解への架け橋となれば幸いです。

12:45-13:15 (2023-06-28 12:15 - 13:15 | D会場)

L - D1 - D001 - 002

複製老化とミトコンドリア

* 大澤 郁朗 (東京都健康長寿医療センター研究所・生体調節機能), 藤田 泰典 (東京都健康長寿医療センター研究所・生体調節機能)

主要老化学説として、フリーラジカル説を背景とするミトコンドリア異常説が Harman によって 1972 年に提唱された。以降、ミトコンドリア機能異常が細胞老化を開始・促進すると考えられてきた。一方、ヘイフリック限界として著名な分裂寿命によって生じる細胞老化は複製老化と呼ばれる。体細胞は一定の分裂回数を超えると分裂速度が低下するが、この過程で超解像 STED 顕微鏡でライブイメージングされるミトコンドリアと内部クリステの形態学的異常は起きない。呼吸鎖機能低下や活性酸素種の増加も生じない。一方、ミトコンドリアの翻訳阻害は分裂寿命を延伸した。以上の結果は、細胞老化の多様性を反映している。

染色体・核・遺伝子・細胞接着・細胞外マトリクス・最新技術・その他

2023/6/28 13:45 ~ 15:15 | A 会場

座長：大杉 美穂（東大）、前島 一博（遺伝研）

O - D1 - A001 - 001

Runx2 新規機能。Runx2 は LINC 構築と核アクチンキャップ構造構築を通じ核ラミナ - クロマチン相互関係を制御する。

* 東 俊文 (東京歯科大学 生化学講座), 長山和亮 (茨城大学 理工学研究科 (工学野) 機械システム工学領域), 小野寺晶子 (東京歯科大学 生化学講座), 間奈津子 (東京歯科大学 生化学講座), 岡田寛之 (東京大学 疾患生命工学センター 臨床医工学部門), 北條宏徳 (東京大学 疾患生命工学センター 臨床医工学部門), 大庭伸介 (大阪大学 大学院歯学研究科口腔解剖学第一教室), 齋藤暁子 (東京歯科大学 生化学講座)

13:45-13:56

O - D1 - A001 - 002

がん細胞の液性因子を介した染色体不安定性誘導機構の解明

* 家村 顕自 (東北大学加齢医学研究所 分子腫瘍学研究分野), 田中 耕三 (東北大学加齢医学研究所 分子腫瘍学研究分野)

13:56-14:07

O - D1 - A001 - 003

組織の流れが駆動する体毛のコーミング機構

* 山崎 正和 (秋田大学大学院理工学研究科 生命科学専攻 | 秋田大学大学院医学系研究科 細胞生物学講座 | 国立研究開発法人 科学技術振興機構 (JST) さきがけ), 秋山 正和 (富山大学学術研究部理学系理学部数学科), 八月朔日 泰和 (秋田大学大学院医学系研究科 細胞生物学講座), 鮎川 友紀 (秋田大学大学院医学系研究科 細胞生物学講座)

14:07-14:18

O - D1 - A001 - 004

PKM1 は SMAD4 不活性化による PYK2 発現促進を介してトリセルラータイトジャンクションへ構成タンパク質を局在化させる

* 角田 貴史 (東京工業大学 生命理工学院 生命理工学系), 中津 大貴 (東京工業大学 科学技術創成研究院 細胞制御工学研究センター), 村田 昌之 (東京工業大学 科学技術創成研究院 細胞制御工学研究センター | 東京工業大学 マルチモーダル細胞解析協働研究拠点), 加納 ふみ (東京工業大学 科学技術創成研究院 細胞制御工学研究センター)

14:18-14:29

O - D1 - A001 - 005

Live cell fluorescence single-molecule speckle (SiMS) microscopy analysis of Vinculin-Talin and actin network

* LIU Ying (Laboratory of Single-Molecule Cell Biology, Kyoto University Graduate School of Biostudies)

14:29-14:40

O - D1 - A001 - 006

高解像度コンピュータシヨナル定量位相顕微鏡の開発

* 犬塚 悠剛 (東京大学 | 理化学研究所), 岡田 康志 (東京大学 | 理化学研究所)

14:40-14:51

O - D1 - A001 - 007

The analysis of the phagocytic heterogeneity on the macrophage cell line by Single-Cell Transcriptomics

* Suphamon Janewanthanakul (Nara Institute of Science and Technology), Hiroki Ikeda (Nara Medical University), Kazuki Kurimoto (Nara Medical University), Kayako Yakura (Nara Institute of Science and Technology), Tamako Nishimura (Nara Institute of Science and Technology), Panyawut Sri-Iesarranuson (Nara Institute of Science and Technology), Kazushi Ikeda (Nara Institute of Science and Technology), Shiro Suetsugu (Nara Institute of Science and Technology)

14:51-15:02

O - D1 - A001 - 008

SSBD: バイオイメージングデータのグローバルなデータ共有

* 京田 耕司 (理化学研究所 生命機能科学研究センター), 糸賀 裕弥 (理化学研究所 生命機能科学研究センター), 王 放放 (理化学研究所 生命機能科学研究センター | 理化学研究所 情報統合本部), 山縣 友紀 (理化学研究所 生命機能科学研究センター | 理化学研究所 情報統合本部), ミランダ ミランダ ミゲル (理化学研究所 生命機能科学研究センター), 山本 春菜 (理化学研究所 生命機能科学研究センター), 遠里 由佳子 (理化学研究所 生命機能科学研究センター | 立命館大学 情報理工学部), 大浪 修一 (理化学研究所 生命機能科学研究センター | 理化学研究所 情報統合本部)

15:02-15:13

Runx2 新規機能。Runx2 は LINC 構築と核アクチンキャップ構造構築を通じ核ラミナ - クロマチン相互関係を制御する。

* 東 俊文 (東京歯科大学 生化学講座), 長山和亮 (茨城大学 理工学研究科 (工学野) 機械システム工学領域), 小野寺晶子 (東京歯科大学 生化学講座), 間奈津子 (東京歯科大学 生化学講座), 岡田寛之 (東京大学 疾患生命工学センター 臨床医工学部門), 北條宏徳 (東京大学 疾患生命工学センター 臨床医工学部門), 大庭伸介 (大阪大学 大学院歯学研究科口腔解剖学第一教室), 齋藤暁子 (東京歯科大学 生化学講座)

キーワード: 核, 核膜, LINC タンパク質, クロマチン, LaminA/C

Lamin A/C 遺伝子変異に起因するラミノパチーは、重症型の早老症 (Hutchinson-Gilford progeria syndrome (HGPS)) 等で、鎖骨、頭蓋縫合部欠損などの骨病変を示す。本研究はラミノパチー骨病態と RUNX2 欠損 iPS 細胞の観察から核ラミナによる核 3 次元構造構築と RUNX2-Lamin A/C のエピジェネティックな関係を解明し両疾患の骨病態機序を解明することを目的とする。RUNX2 欠損 iPS 由来細胞では、LINC タンパク質 Nesprin1 と Lamin A/C 発現が低下しラミノパチー様の核形態異常が認められた。原子間力顕微鏡による細胞と核の物理学的特性を観察すると、RUNX2^{-/-} 細胞の核変形と物理的硬さの著明な減弱及び Nesprin 1 に会合する核周囲の核アクチンキャップ構造消失、アクチンストレスファイバー消失と細胞内張力の著明な低下を認めた。この RUNX2^{-/-} 細胞に LINC タンパク質 Nesprin 1 を強制発現させるだけで、核膜の硬さ回復と核アクチンキャップ構造とアクチンストレスファイバーおよび細胞内張力が回復した。RUNX2^{-/-} 細胞 +Nesprin 1 導入細胞はメカニカルストレス応答機序も回復した。Lamin A/C の CUT&RUN 解析で RUNX2^{-/-} 細胞 +Nesprin1 の強制発現でのみ TSS 領域への LaminA/C 濃縮を認めたが RUNX2^{-/-} 細胞は TSS は LaminA/C が疎であった。RUNX2^{-/-} 細胞 +Nesprin 1 強制発現細胞で、RUNX2^{+/+} 細胞と同等の前骨芽細胞集団出現を認めた。RUNX2 欠損細胞では、核膜タンパク質の発現低下や核周囲アクチン線維の低形成、細胞内張力不足と、ラミノパチー様の異常核を有し空間的な染色体動態の変化が CCD 病態の根底にあることが示された。

がん細胞の液性因子を介した染色体不安定性誘導機構の解明

* 家村 顕自 (東北大学加齢医学研究所 分子腫瘍学研究分野), 田中 耕三 (東北大学加齢医学研究所 分子腫瘍学研究分野)

キーワード: 染色体不安定性, 細胞分裂, 酸化ストレス, 液性因子, オミクス

がん細胞は、細胞が分裂する際に染色体を均等に分配できないことに起因する染色体不安定性を有している。このことから、がん細胞が染色体不安定性を維持するためには、細胞集団内で継続して染色体分配異常が引き起こされる必要がある。一方で、染色体分配の異常は細胞の増殖や生存を著しく抑制する。このため、染色体分配異常を呈した細胞が増殖し、がん細胞の染色体不安定性に貢献しているとは考えにくい。そこで、我々は、染色体分配異常が細胞外液性因子によって細胞集団全体に波及することで、染色体不安定性が誘導されるという仮説を考えその可能性を検証した。

これまでに、がん細胞の染色体不安定性の素地として、分裂期における動原体分子のリン酸化の減弱が存在することを明らかにしている。そこで、この表現型に対する細胞外液性因子の影響を検証するために、二倍体正常細胞株を異数性がん細胞株と共培養したところ、二倍体正常細胞株において動原体のリン酸化強度が減弱し、染色体分配異常が誘導された。この結果より、異数性がん細胞の培養上清中に染色体分配異常を誘導する因子が含まれている可能性が示唆された。そこで、異数性がん細胞株と二倍体正常細胞株の培養上清のメタボローム解析及びプロテオーム解析を実施したところ、異数性がん細胞株の培養上清中には抗酸化物質が多く含まれていることがわかった。生細胞観察により酸化ストレス状態を確認したところ、二倍体正常細胞株では分裂期において酸化ストレスが亢進していることがわかった。そこで、異数性がん細胞株の培養上清で増加していた抗酸化代謝物を、二倍体正常細胞株の分裂期に処理したところ、動原体のリン酸化の減弱と染色体分配異常が誘導された。

本会では、これらの実験結果の詳細を示し、異数性がん細胞の細胞外液性因子による分裂期酸化ストレスの抑制を介した染色体不安定性の発生機序について議論したい。

組織の流れが駆動する体毛のコーミング機構

* 山崎 正和 (秋田大学大学院理工学研究科 生命科学専攻 | 秋田大学大学院医学系研究科 細胞生物学講座 | 国立研究開発法人 科学技術振興機構 (JST) さきがけ), 秋山 正和 (富山大学学術研究部理学系理学部数学科), 八月朔日 泰和 (秋田大学大学院医学系研究科 細胞生物学講座), 鮎川 友紀 (秋田大学大学院医学系研究科 細胞生物学講座)

キーワード: 平面内細胞極性, PCP, 細胞外マトリックス, ECM, ショウジョウバエ

体表面や管腔内面を覆う上皮組織には、体毛や繊毛が無数に存在する。これらの構造物は無秩序に配置されているのではなく、特定の方向に配向し、精巧なパターンを形成する。この現象は、平面内細胞極性 (planar cell polarity: PCP) と呼ばれ、組織機能の発現において重要な役割を果たす。例えば、内耳の有毛細胞は、音の振動を効率よく感知できるように、特定の方向に向かって感覚毛を形成し、その配向性異常は聴覚機能の低下を招く。約 40 年前、体毛の配向性異常を呈するショウジョウバエ変異体から PCP を司る遺伝子が初めて同定されたのを嚆矢とし、現在までに、ヒトやマウスを含む様々な動物において多くの PCP 制御分子が見出されている。その中でも、膜貫通型分子 Frizzled や Flamingo 等から構成されるコアグループ分子群は、PCP 形成において中心的な役割を果たすと考えられており、コアグループの機能に主眼が置かれた PCP 研究が多くなされてきた。その一方で、組織によっては、コアグループに依存しない PCP 制御機構の存在が以前より示唆されている。例えば、ショウジョウバエ背板では、今から数十年前の PCP 研究の黎明期にその可能性が提示されていたが、現在においてもその分子機構は全く不明である。最近、我々は、ショウジョウバエ背板のライブイメージング等を駆使することで、Tissue flow と呼ばれる上皮細胞の集団移動がコアグループに依存しない PCP 制御機構の実体であることを明らかにした。またこの過程において、Tissue flow が上皮組織の頂端側にある細胞外マトリックス (aECM) を櫛として利用することで、自身の流れの向きとは反対方向に感覚毛を配向させることを見出した。言わば、Tissue flow が美容師として働き、aECM を櫛として利用することで、毛の向きを特定の方向に揃えることが明らかとなった。

PKM1 は SMAD4 不活性化による PYK2 発現促進を介してトリセルラータイトジャンクションへ構成タンパク質を局在化させる

* 角田 貴史 (東京工業大学 生命理工学院 生命理工学系), 中津 大貴 (東京工業大学 科学技術創成研究院 細胞制御工学研究センター), 村田 昌之 (東京工業大学 科学技術創成研究院 細胞制御工学研究センター | 東京工業大学 マルチモーダル細胞解析協働研究拠点), 加納 ふみ (東京工業大学 科学技術創成研究院 細胞制御工学研究センター)

キーワード: 上皮細胞, 細胞接着, タイトジャンクション, キナーゼ, 画像解析

トリセルラータイトジャンクション (Tricellular Tight Junction: tTJ) は、上皮細胞間の三細胞接触部の密着結合を担う構造体で、二細胞接触部の密着結合を担うバイセルラータイトジャンクション (Bicellular Tight Junction: bTJ) と共に、癌化した上皮細胞の増殖や浸潤を抑制することが示唆されている。また、tTJ の正常な機能発現には、構成タンパク質である LSR や Tricellulin の局在化が必須であることも示されている。私達は、癌化上皮細胞の増殖や浸潤を抑制する M 型ピルビン酸キナーゼである PKM1 の発現抑制が、tTJ への LSR や Tricellulin の局在化を抑制することを、マウス乳腺上皮由来癌細胞株である EpH4 細胞を用いた実験から明らかにした。また、局在化の抑制が tTJ から bTJ への局在変化にあることを、LSR や Tricellulin の蛍光染色画像の解析から明らかにした。さらに、PKM1 の発現抑制が、tTJ への構成タンパク質の局在化を促進する非受容体型チロシンキナーゼである PYK2 の発現量低下を介して、局在変化を引き起こすことを遺伝子発現量と蛍光染色画像の解析から示唆した。最後に、PKM1 が PYK2 の発現量を調節するメカニズムの解析を行い、PKM1 の発現抑制により転写調節機能を持つ SMAD4 の活性が増加すること、PKM1 と SMAD4 の二重発現抑制下では、PKM1 の単独発現抑制下で低下した PYK2 の発現量が回復することの、2 点を確認した。同条件下では、tTJ への LSR と Tricellulin の局在化が回復することも併せて確認した。これらの結果は、PKM1 が SMAD4 の転写抑制機能の不活性化を介して PYK2 の発現量を亢進することで、tTJ への構成タンパク質の局在化と正常な機能発現を促進していることを示唆した。

Live cell fluorescence single-molecule speckle (SiMS) microscopy analysis of Vinculin-Talin and actin network

* LIU Ying (Laboratory of Single-Molecule Cell Biology, Kyoto University Graduate School of Biostudies)

キーワード：focal adhesion, vinculin, single-molecule speckle microscopy, actin network

Focal adhesions (FAs) are integrin-based, multiprotein structures that form links between the intracellular actin cytoskeleton and extracellular matrix (ECM). At the cell periphery, the retrograde actin flow, continuous centripetal movement of the actin network, is widely observed in adherent cells. Vinculin is one of the major FA components and has been proposed to stabilize FAs in a force-dependent manner. Although the interaction of vinculin with F-actin is critical for the function of vinculin, how vinculin associates with dynamic actin networks remained unclear. Single-molecule speckle (SiMS) microscopy is a powerful approach to directly observe the mechanics linking actin dynamics and cell adhesion at the molecular level. By using SiMS, we found that vinculin in lamellipodia exhibits retrograde flow-associated motion. To clarify how vinculin interacts with the lamellipodial actin network, we examined molecular motions of wild-type vinculin and three kinds of vinculin mutants, which are constitutively active, lacking F-actin binding, and weak talin binding mutants, respectively. Moreover, vinculin SiMS on matured focal adhesions exhibit flowing fractions and stationary fractions. These data suggest four points as follows

高解像度コンピュータシヨナル定量位相顕微鏡の開発

* 犬塚 悠剛 (東京大学 | 理化学研究所), 岡田 康志 (東京大学 | 理化学研究所)

キーワード：無染色 (非標識・ラベルフリー) イメージング, 定量位相イメージング (QPI), 細胞小器官 (細胞内小器官・オルガネラ), ミトコンドリア, 小胞体 (ER)

細胞内の特定の分子や構造を標識して観察することができる蛍光顕微鏡は、GFP 技術の開発と共に、ライブセルイメージングにも広く用いられるようになった。それに伴い、褪色による長時間観察の制約や、幹細胞など光毒性に弱い細胞の観察の難しさなど、蛍光ライブセルイメージング特有の課題が明確になってきた。また、臨床応用など蛍光染色が困難な用途や、蛍光染色が標的分子の局在や動態、細胞の生理機能に影響を与える可能性など、蛍光染色に伴う制約も認識されるようになった。そこで近年、無染色でのライブセルイメージング技術が再び注目されている。生体組織はほぼ無色透明であるため、生細胞の無染色観察手法として、位相差顕微鏡や微分干渉顕微鏡が広く使用されてきた。いずれも、細胞内の物質分布を反映した屈折率差を位相コントラストとして可視化する優れた手法であるが、屈折率分布を位相差の絶対値として定量的に可視化するものではない。また、ハロや方位依存性などの各手法特有の制約も存在する。これらの問題を克服するために、位相差を定量的に計測する定量位相顕微鏡法が開発されている。試料を通過した光と参照光による干渉を利用した顕微鏡法は、半世紀以上前から使われる正確な手法である。しかし、外乱の影響を鋭敏に受けるため、実際の生物試料の安定な計測が容易でない上に、干渉計測用の光学系を追加する必要がある。一方、顕微鏡光学系の結像過程を理論的に逆算することで、干渉計を使わずに位相分布を推定することも可能である。この方法では、顕微鏡光学系に大きな変更を加えることなく、撮影した画像から計算によって位相差を推定できる。この手法は簡便に実装できるため、細胞の乾燥質量や厚みの推定など主に細胞レベルの計測で用いられてきた。本演題では、コンピュータシヨナルな定量位相顕微鏡の高分解能化に取り組み、細胞内の微細構造の可視化、動態計測などへの応用を議論したい。

The analysis of the phagocytic heterogeneity on the macrophage cell line by Single-Cell Transcriptomics

* Suphamon Janewanthanakul (Nara Institute of Science and Technology), Hiroki Ikeda (Nara Medical University), Kazuki Kurimoto (Nara Medical University), Kayako Yakura (Nara Institute of Science and Technology), Tamako Nishimura (Nara Institute of Science and Technology), Panyawut Sri-lesarranon (Nara Institute of Science and Technology), Kazushi Ikeda (Nara Institute of Science and Technology), Shiro Suetsugu (Nara Institute of Science and Technology)

キーワード：Single cell transcriptomics, Heterogeneity, Macrophage, Phagocytosis, Weight gene co-expression network analysis (WGCNA)

The characteristics of cells gradually alter through their proliferation, which results in the heterogeneity of the cells. Such acquisition of heterogeneity can be observed even in cell lines, which is prominent in the phagocytic ability of the macrophages. Phagocytosis is a complex process that involves membrane deformation and cytoskeleton rearrangement to engulf foreign particles. In this study, the heterogeneity that raised in the macrophage cell line in phagocytosis were investigated by the single cell transcriptomic data that are associated with the phagocytic ability. The cells were recorded for the phagocytosis under microscope and then the same cells were subjected to the single cell transcriptomic analysis. Then we have successfully obtained the -10,000 gene expressing data associated with phagocytic ability. Out of -10,000 genes, 691 genes were identified as differentially expressed genes dependently on phagocytosis, where 434 genes were up-regulated, and 257 genes were down-regulated in phagocytosis. The functional enrichment analysis of the upregulated genes revealed the enrichment of immune response, signal transduction, and Fc receptor-mediated phagocytosis. The weighted gene co-expression network analysis (WGCNA) demonstrated the module of genes by Pearson's correlation of their expression that are statistically related to phagocytosis. These candidate genes will be further analyzed for their involvement in the phagocytosis. This study provides new insight into the complex regulations in the phagocytosis process while suggesting new candidate genes that can be involved in macrophage heterogeneity of phagocytosis function.

SSBD: バイオイメージングデータのグローバルなデータ共有

* 京田 耕司 (理化学研究所 生命機能科学研究センター), 糸賀 裕弥 (理化学研究所 生命機能科学研究センター), 王 放放 (理化学研究所 生命機能科学研究センター | 理化学研究所 情報統合本部), 山縣 友紀 (理化学研究所 生命機能科学研究センター | 理化学研究所 情報統合本部), ミランダ ミランダ ミゲル (理化学研究所 生命機能科学研究センター), 山本 春菜 (理化学研究所 生命機能科学研究センター), 遠里 由佳子 (理化学研究所 生命機能科学研究センター | 立命館大学 情報理工学部), 大浪 修一 (理化学研究所 生命機能科学研究センター | 理化学研究所 情報統合本部)

キーワード：データベース, リポジトリ, イメージング, 画像解析, オープンサイエンス

生命科学研究におけるオープンなデータの共有と再利用は、新たな仮説の生成や解析手法の開発を可能とし、生命科学の発展を加速している。バイオイメージング分野におけるデータ共有と再利用のために、我々は SSBD (<https://ssbd.riken.jp>) を開発・運用している。2019 年より SSBD は、論文で使用した全てのイメージングデータを共有するリポジトリ SSBD:repository と、最先端の技術で取得したデータ等の再利用性の高いイメージングデータを豊富なメタデータを付加して共有する高付加価値データベース SSBD:database の二階層の仕組みに移行した。近年、多くの学術誌で学術論文の一次データの公開の義務化が進んでいるが、SSBD:repository はイメージングデータの公共リポジトリとして利用可能であり、永続的なデータアクセスを可能にする DOI も発行している。これまでに、SSBD では、計 8768 セット (26.7TB) のイメージングデータが、オープンデータの適切な公開方法を示した FAIR 原則に則って共有されている。現在、イメージングデータのグローバルな共有と再利用を目指して、日米欧を拠点としたデータ共有システムの構築を進めている。SSBD:repository と欧州の BioImage Archive が公共リポジトリ層を担い、SSBD:database と欧州の Image Data Resource が高付加価値データベース層を担う。米国では、現在の層を担う仕組みの構築が検討されている。グローバルなデータ共有システムにより、世界中のイメージングデータが統一された検索、アクセス方法、フォーマットで再利用可能となることが期待される。SSBD データベースでは従来のイメージングデータに加えて、空間情報を含むオミクスデータなどを受け入れる計画であり、その準備を進めている。

細胞増殖・分化・死・シグナル伝達・免疫・感染

2023/6/28 13:45 ~ 15:15 | B会場

座長：大澤 志津江 (名大)、小根山 千歳 (愛知県がんセンター)

O - D1 - B001 - 001

細胞競合をトリガーする細胞状態センサーの解析

* 菅田浩司 (京都大学大学院生命科学研究所システム機能学分野), 川崎あや (京都大学大学院生命科学研究所システム機能学分野), 近藤周 (東京理科大学先進工学部生命システム工学科 | 国立遺伝学研究所遺伝メカニズム研究系無脊椎動物遺伝研究室), 齋藤都暁 (国立遺伝学研究所遺伝メカニズム研究系無脊椎動物遺伝研究室), 小林朋絵 (重井医学研究所分子遺伝部門), 松山誠 (重井医学研究所分子遺伝部門), 井垣達吏 (京都大学大学院生命科学研究所システム機能学分野)

13:45-13:56

O - D1 - B001 - 002

Dual FRET システムを基盤とした細胞内局所的カスパーゼ活性の解析

* 平 雄介 (東京大学大学院薬学系研究科遺伝学教室), 篠田 夏樹 (東京大学大学院薬学系研究科遺伝学教室), 三浦 正幸 (東京大学大学院薬学系研究科遺伝学教室)

13:56-14:07

O - D1 - B001 - 003

空間トランスクリプトーム技術を用いた in vivo における細胞競合のメカニズム解析

* 三宅 舞 (大阪大学 微生物病研究所 生体統御分野), 穂枝 佑紀 (大阪大学 微生物病研究所 生体統御分野), 原岡 由喜也 (大阪大学 微生物病研究所 生体統御分野), 田中 かおり (九州大学 生体防御医学研究所 トランスクリプトミクス分野), 原田 哲仁 (九州大学 生体防御医学研究所 トランスクリプトミクス分野), 大川 恭行 (九州大学 生体防御医学研究所 トランスクリプトミクス分野), 石谷 太 (大阪大学 微生物病研究所 生体統御分野)

14:07-14:18

O - D1 - B001 - 004

イミキモド誘導性乾癬様皮膚炎の病態形成における小胞体ストレス応答およびミトコンドリア DNA の関与

* 織 大祐 (奈良先端科学技術大学院大学), 奥出 遥奈 (奈良先端科学技術大学院大学), 小西 莉子 (奈良先端科学技術大学院大学), 村瀬 本弥 (奈良先端科学技術大学院大学), 川崎 拓実 (奈良先端科学技術大学院大学 | 長崎大学高度感染症研究センター), 石井 健 (東京大学医科学研究所), 中島 欽一 (九州大学大学院医学研究院), 山本 雅裕 (大阪大学微生物病研究所), 河野 憲二 (奈良先端科学技術大学院大学), 河合 太郎 (奈良先端科学技術大学院大学)

14:18-14:29

O - D1 - B001 - 005

胎生期における脳室マクロファージの脳原基侵入と血管構造との関連

* 村山 歩駿 (名古屋大学大学院医学系研究科), 服部 祐季 (名古屋大学大学院医学系研究科), 宮田 卓樹 (名古屋大学大学院医学系研究科)

14:29-14:40

O - D1 - B001 - 006

膜孔形成毒素依存的なエンドソーム膜損傷を制御する肺炎球菌の新規生存戦略の解析

* 栗石早矢佳 (国立感染症研究所 細菌第一部), 小川道永 (国立感染症研究所 細菌第一部), 明田幸宏 (国立感染症研究所 細菌第一部)

14:40-14:51

O - D1 - B001 - 007

トレハロース分解による細胞質流動化が酵母胞子の増殖再開を駆動する

* 酒井 啓一郎 (基礎生物学研究所 | 生命創成探求センター), 後藤 祐平 (基礎生物学研究所 | 生命創成探求センター | 総合研究大学院大学), 近藤 洋平 (基礎生物学研究所 | 生命創成探求センター | 総合研究大学院大学), 青木 一洋 (基礎生物学研究所 | 生命創成探求センター | 総合研究大学院大学)

14:51-15:02

O - D1 - B001 - 008

宿主細胞の浸潤制御を介した SARS-CoV-2 血中移行メカニズムの解明

* 小倉由希乃 (筑波大学医学医療系), 川口敦史 (筑波大学医学医療系)

15:02-15:13

細胞競合をトリガーする細胞状態センサーの解析

* 菅田浩司 (京都大学大学院生命科学研究所システム機能学分野), 川崎あや (京都大学大学院生命科学研究所システム機能学分野), 近藤周 (東京理科大学先進工学部生命システム工学科 | 国立遺伝学研究所遺伝メカニズム研究系無脊椎動物遺伝研究室), 齋藤都暁 (国立遺伝学研究所遺伝メカニズム研究系無脊椎動物遺伝研究室), 小林朋絵 (重井医学研究所分子遺伝部門), 松山誠 (重井医学研究所分子遺伝部門), 井垣達史 (京都大学大学院生命科学研究所システム機能学分野)

キーワード: 細胞競合, ショウジョウバエ, リボソームタンパク質, 細胞運命決定

性質や状態が異なる同種の細胞が組織中で隣り合った際、これらの細胞間の相互作用を介して一方の細胞が細胞死によって排除される現象が存在し、「細胞競合」と呼ばれる。細胞競合は上皮組織からがん原性細胞が排除されたり、マウス初期胚において多能性因子の発現が低い細胞が選択的に排除される現象として知られている。すなわち、細胞競合は異常細胞の排除を通じて多細胞集団のクオリティを自律的に最適化する役割を果たすと考えられる。細胞競合によって排除される細胞が細胞死を起こす分子機構が明らかになりつつある一方で、細胞間の性質や状態の差がいかなる分子機構によって細胞競合を誘導するかはほとんど明らかでない。この点を明らかにする目的で、我々は細胞競合を誘導するモデルショウジョウバエ系統を一連の染色体部分欠失系統と交配し、細胞競合を抑制する染色体欠失系統のスクリーニングを行った。その結果、細胞競合を顕著に抑制する変異系統の責任遺伝子として、リボソーム小サブユニットの構成分子の1つである RpS27A を同定した。さらに、RpS27A は細胞競合の実行に不可欠な転写因子 Xrp1 の発現誘導に必要であることを見出した。近年、RpS12 が細胞競合の実行に必要であることが注目されている。RpS27A はリボソーム内で RpS12 と隣接しており、RpS27A と RpS12 が協働して Xrp1 の発現誘導に関与するという可能性も見出した。以上の結果から、細胞の性質や状態の変化が細胞競合を駆動する際、RpS27A と RpS12 が細胞状態のセンサーのような役割を果たして細胞運命決定を担っている可能性が示唆された。

Dual FRET システムを基盤とした細胞内局所的カスパーゼ活性の解析

* 平 雄介 (東京大学大学院薬学系研究科遺伝学教室), 篠田 夏樹 (東京大学大学院薬学系研究科遺伝学教室), 三浦 正幸 (東京大学大学院薬学系研究科遺伝学教室)

キーワード: カスパーゼ, アポトーシス, 蛍光共鳴エネルギー遷移

細胞死実行因子カスパーゼは細胞内に点在する 1000 以上もの基質の切断を介してアポトーシスを実行する。例えば、細胞膜リン脂質スクランブラーゼ Xkr8 はホスファチジルセリンの細胞表面への露出、アクチン重合促進因子 ROCK1 は細胞膜プレブの形成を、それぞれカスパーゼによる切断を介し促進する。しかし、アポトーシス時に細胞内の、いつ、どこで、どの程度カスパーゼが活性化していくか、その時空間情報はいまだほとんど理解されていない。我々は、細胞内局所的なカスパーゼ活性を解析するために、実行カスパーゼ活性を高い時空間分解能で検出するプローブを開発した。具体的には、高い時間分解能での解析に有用な FRET プローブ O-DEVD-FR (mKO κ /mKate2) を細胞内局所、mSCAT3 (ECFP/Venus) を細胞全体 (内部標準) に配座する Dual FRET システムを構築した。HeLa 細胞におけるアポトーシスに対し Dual FRET システムを適用した結果、実行カスパーゼは細胞膜近傍で速やかに活性化する一方で、アクチン繊維近傍では遅滞することを見出した。この傾向はアポトーシスの外因性、内因性経路によらず確認された。以上の結果は、アポトーシス時のカスパーゼ活性化において時空間的な順序が存在することを示す。次に、この時空間的な制御機構を探索すべく、実行カスパーゼのノックアウト (KO) 細胞株を解析した。その結果、カスパーゼ 7 KO 細胞株で細胞膜近傍での活性化の遅延が確認された。本研究の結果から、アポトーシスにおいてカスパーゼ 7 が時空間的な制御を担うことが示された。本発表では、時空間的に制御されたカスパーゼ活性化の意義について、細胞内に点在する基質の切断嗜好生の側面からも議論したい。

空間トランスクリプトーム技術を用いた in vivo における細胞競合のメカニズム解析

* 三宅 舞 (大阪大学 微生物病研究所 生体統御分野), 穂枝 佑紀 (大阪大学 微生物病研究所 生体統御分野), 原岡 由喜也 (大阪大学 微生物病研究所 生体統御分野), 田中 かおり (九州大学 生体防御医学研究所 トランスクリプトミクス分野), 原田 哲仁 (九州大学 生体防御医学研究所 トランスクリプトミクス分野), 大川 恭行 (九州大学 生体防御医学研究所 トランスクリプトミクス分野), 石谷 太 (大阪大学 微生物病研究所 生体統御分野)

キーワード: 細胞競合, ゼブラフィッシュ, トランスクリプトーム, がん

細胞競合は、適応度の異なる2種類の細胞が隣接した際に、適応度のより高い細胞が、適応度の低い細胞を排除する現象である。この現象は一種の生体防御機構として捉えられており、組織に突発的に生じた病的な不良細胞を積極的に取り除くことで組織恒常性を支える。しかしながら、適応度の低い不良細胞に隣接した正常な細胞がどのようなメカニズムによって不良細胞の適応度を感知し“排除すべき細胞”と判断を下すのかは、まだよくわかっていない。我々はこれまで、ゼブラフィッシュ胚に生じた不良細胞群とそれらと競合する正常細胞群をFACSで分取してトランスクリプトーム解析することでin vivoにおける細胞競合のメカニズムを解析してきた。しかし、この手法では細胞の空間情報が失われてしまい、隣接正常細胞の情報を取得することが困難であった。そこで本研究では、最新の空間トランスクリプトーム技術であるPIC (photo-isolation chemistry) のゼブラフィッシュ細胞競合解析系への応用を試みた。PICは、解析対象組織の細胞をバラバラにせずに切片の状態扱い「関心のある細胞のトランスクリプトーム情報を、その空間情報を保持したまま取得すること」を可能にする技術である。我々は、ゼブラフィッシュ上皮組織におけるRas変異細胞と隣接正常細胞の競合のメカニズムをPICを用いて解析し、細胞競合の際に隣接正常細胞で発現変動する遺伝子群を見出すことに成功した。さらに一部の遺伝子については、機能阻害実験により細胞競合に関与することを確認した。現在、これらの発見を起点として、隣接細胞による不良細胞感知機構の解明に取り組んでいる。本会ではその進捗についてお話したい。この研究により、細胞競合の分子メカニズムの包括的な理解が可能になると期待している。

イミキモド誘導性乾癬様皮膚炎の病態形成における小胞体ストレス応答およびミトコンドリアDNAの関与

* 織 大祐 (奈良先端科学技術大学院大学), 奥出 遥奈 (奈良先端科学技術大学院大学), 小西 莉子 (奈良先端科学技術大学院大学), 村瀬 本弥 (奈良先端科学技術大学院大学), 川崎 拓実 (奈良先端科学技術大学院大学 | 長崎大学高度感染症研究センター), 石井 健 (東京大学医科学研究所), 中島 欽一 (九州大学大学院医学研究院), 山本 雅裕 (大阪大学微生物病研究所), 河野 憲二 (奈良先端科学技術大学院大学), 河合 太郎 (奈良先端科学技術大学院大学)

キーワード: 乾癬, ERストレス, ミトコンドリアDNA, 樹状細胞, 角化細胞

乾癬は、角化細胞の異常分化・増殖、免疫細胞の真皮浸潤を特徴とする炎症性皮膚疾患で、免疫細胞と角化細胞の相互作用が病態形成に重要な役割を担っている。患者においては、IL-23/IL-17A経路が病態形成に重要な役割を果たすとともに、抗菌ペプチドが病変部に免疫細胞を引き寄せ活性化し、IL-23などの炎症性サイトカインの産生を促進することが示されている。また、樹状細胞が産生するIL-1betaは、Th17細胞の分化と活性化に寄与し、炎症を増悪化させる。これにより、IL-23/IL-17A経路を軸に炎症ループが形成される。しかし、どのような因子がループの起点となるのかは不明であった。

本研究では、イミキモド(IMQ)誘発性乾癬様皮膚炎の発症に必須なシグナル伝達経路を同定した。IMQは、マウス骨髄由来樹状細胞において、小胞体-ミトコンドリア接触部位の形成を増加させ、ミトコンドリアへのCa²⁺流入を促進した。また、IMQはIRE1-XBP1s経路を介した小胞体ストレス応答(UPR)を誘導し、MyD88依存性シグナルとともにIl23a発現を相乗的に誘導した。さらに、IMQは角化細胞においてもCa²⁺-IRE1-XBP1s経路を活性化し、抗菌ペプチドであるbeta-defensin 14 (BD14)などの乾癬関連遺伝子の発現を誘導した。我々は、NLRP3インフラマソーム依存的に樹状細胞から放出される酸化ミトコンドリアDNAとBD14が複合体を形成し、TLR9を介して形質細胞様樹状細胞を活性化することで炎症を促進することを見出した。実際、イミキモド誘導性乾癬様皮膚炎は、UPRの誘導により悪化した一方、IP3受容体阻害によって減弱された。これらの結果は、乾癬の病態形成にUPRおよびミトコンドリアDNA放出が重要な役割を担っている可能性を示唆している。

14:29-14:40 (2023-06-28 13:45 - 15:15 | B会場)

O - D1 - B001 - 005

胎生期における脳室マクロファージの大脳原基侵入と血管構造との関連

* 村山 歩駿 (名古屋大学大学院医学系研究科), 服部 祐季 (名古屋大学大学院医学系研究科), 宮田 卓樹 (名古屋大学大学院医学系研究科)

キーワード: 脳境界関連マクロファージ, ミクログリア, マウス胎仔, 血管, 二光子顕微鏡

動物の組織・臓器には免疫細胞が常在しており、脳についても例外ではない。ミクログリアは脳および中枢神経系に常在する免疫細胞であり、脳の機能構築や組織環境の恒常性の維持のために働く。また、ミクログリアは胎生期から常在しており、神経系細胞の分化および、移動や分布の制御を行っていることが知られている。一方で脳内にはミクログリアの他に、脳境界関連マクロファージと呼ばれる免疫細胞集団が存在している。これらマクロファージはミクログリアと共通の発現遺伝子を多く有するが、発生期から血管周囲、髄膜、脈絡叢および脳室内腔といった、ミクログリアとは異なる分布を示す。ミクログリアおよび脳境界関連マクロファージの起源については、マウスやゼブラフィッシュを用いた研究が進められており、卵黄嚢の Erythromyeloid progenitor (EMP) と呼ばれる前駆細胞を起源とすることが知られている。しかしながら、同一の起源からいつ・どのようにして両者の細胞への運命選択がなされ、最終的にそれぞれの脳内の持ち場へと定着するのかについては未解明である。これまで所属グループではマウス胎仔におけるミクログリアおよびマクロファージに焦点をあてた研究により、胎生 12 日目において脳室に存在するマクロファージが大脳原基に侵入する様子を観察し、さらにこれらの細胞が大脳原基に侵入後、ミクログリア様の性質を獲得することを確認した。これら 2 つの現象から、大脳原基に分布するミクログリアの一部は、脳室に分布するマクロファージを由来とすることを見出した (Hattori et al., Cell Rep 2023)。本学会では特に侵入段階に注目し、マクロファージが脳実質中の血管の先端に形成される構造を利用することを、ホールマウント免疫染色や二光子顕微鏡を用いた最新の実験データをもとに議論する。

14:40-14:51 (2023-06-28 13:45 - 15:15 | B会場)

O - D1 - B001 - 006

膜孔形成毒素依存的なエンドソーム膜損傷を制御する肺炎球菌の新規生存戦略の解析

* 零石早矢佳 (国立感染症研究所 細菌第一部), 小川道永 (国立感染症研究所 細菌第一部), 明田幸宏 (国立感染症研究所 細菌第一部)

キーワード: 肺炎球菌, NanoBiT, 膜孔形成毒素, シアリダーゼ

近年、肺炎球菌が侵襲性感染を引き起こす経路の一つとして、宿主細胞へと侵入した肺炎球菌が、膜孔形成毒素 Pneumolysin (Ply) によってエンドソーム膜を損傷することでエンドソーム内環境の酸性化を抑制し、リソソームによる殺菌を逃れ血中や髄液へと移行する経路が明らかになってきている。一方で、過度なエンドソーム膜の損傷は宿主殺菌機構であるオートファジー誘導の引き金ともなることから、今回我々は、肺炎球菌の新たな細胞内生存戦略として Ply によるエンドソーム膜損傷を制御している可能性について解析を行った。

最初に、HiBiT と LgBiT を用いた luciferase assay によりエンドソーム膜損傷を定量化するアッセイ系を構築した。次に、構築した系を基盤として、肺炎球菌感染時にエンドソーム膜損傷を制御する病原因子を探索した結果、肺炎球菌の菌体表層に局在するシアリダーゼである NanA が Ply 依存的なエンドソーム膜損傷を抑制することが示唆された。さらに、NanA によるエンドソーム膜損傷の抑制は肺炎球菌に対するオートファジー誘導の低下と菌の細胞内生存性の向上をもたらすことも示唆された。以上の結果から、肺炎球菌が NanA を用いて Ply の強力な膜損傷活性を適切なレベルにまで抑制することで、エンドソーム内での殺菌を回避しつつオートファジー誘導も抑制するという、新たな生存戦略を有していることが示唆された。

14:51-15:02 (2023-06-28 13:45 - 15:15 | B会場)

O - D1 - B001 - 007

トレハロース分解による細胞質流動化が酵母胞子の増殖再開を駆動する

* 酒井 啓一郎 (基礎生物学研究所 | 生命創成探求センター), 後藤 祐平 (基礎生物学研究所 | 生命創成探求センター | 総合研究大学院大学), 近藤 洋平 (基礎生物学研究所 | 生命創成探求センター | 総合研究大学院大学), 青木 一洋 (基礎生物学研究所 | 生命創成探求センター | 総合研究大学院大学)

キーワード: 細胞質流動性, 休眠打破, cAMP-PKA 経路, トレハロース, 分裂酵母

酵母、哺乳類細胞を始めとする様々な細胞は、一時的に増殖を停止して休眠することができる。休眠細胞はストレス耐性を獲得し増殖に不適な環境を耐え、良好な環境になると休眠を解いて増殖を再開する。真核細胞モデルである分裂酵母は、窒素源枯渇に反応して胞子を形成して休眠する。胞子は炭素源となるグルコースを感知すると休眠から復帰し、活発な増殖を再開する。近年、栄養源枯渇などのストレス環境において、酵母細胞内の流動性の低下がストレス応答に必要であることが報告されている。しかし、分裂酵母胞子で細胞質の流動性が低下しているのか、そして、流動性がどのようにして制御されるのかについては明らかになっていない。

本研究では、分裂酵母胞子の流動性を評価するため、蛍光性ナノ粒子である GEM (Genetically Encoded Multimeric nanoparticles) を使用した。まず、GEM 粒子の動きを胞子と増殖期細胞とで比較したところ、胞子では細胞質の流動性が 30 倍程度低下していることが明らかになった。続いて、胞子から増殖期に復帰する過程を通して GEM 粒子を観察したところ、復帰の初期段階で急速に細胞内が流動化していた。さらに、この復帰時の細胞質流動化の分子機構を遺伝学的に調べたところ、グルコース感知機構である cAMP-PKA 経路とトレハロース分解経路である Ntp1 が流動化に必要であることが明らかになった。トレハロースは復帰時に細胞質流動化と同様に急速に分解されるため、トレハロース分解が流動化に関与していることが示唆された。また、薬剤を用いた解析から解糖系を介した ATP 合成が胞子内の段階的な流動化に関与することが判明した。これらの結果より、胞子の休眠からの復帰過程では、トレハロースが分解されることで細胞質が急速に流動化し、その後、ATP 合成を介して徐々に細胞質が流動化すると考えている。

宿主細胞の浸潤制御を介した SARS-CoV-2 血中移行メカニズムの解明

* 小倉由希乃 (筑波大学医学医療系), 川口敦史 (筑波大学医学医療系)

キーワード: 細胞浸潤, 細胞骨格, SARS-CoV-2, 感染症

SARS-CoV-2 は ACE2 受容体を介して肺胞上皮細胞に感染したのち、一部は血中へと移行し (ウイルス血症)、他臓器障害を引き起こす。肺胞上皮と血管を裏打ちする血管内皮は基底膜によって隔てられており、感染後のサイトカインストームに伴う血管透過性の亢進、免疫細胞の浸潤などが基底膜の破壊を引き起こす要因として考えられている。しかしながら、サイトカインストームはウイルス血症を起こさない呼吸器感染症 (インフルエンザウイルス等) においても共通の特徴であることから、SARS-CoV-2 は独自の戦略を持つことが考えられる。本研究では、SARS-CoV-2 が基底膜を通過し肺組織から血中へと侵入する分子メカニズムを明らかにすることを目的とした。

SARS-CoV-2 感染細胞では、膜構造がダイナミックに形態変化し、非感染細胞にはみられない伸長突起様構造が観察された。この伸長突起様構造には、F-アクチンに富んだ浸潤突起 (Invadopodia) が形成されることを見出した。Invadopodia はマトリックスメタロプロテアーゼ (MMPs) の分泌を介して細胞外基質の分解と細胞浸潤を担う重要な構造である。SARS-CoV-2 感染によって誘導された伸長突起様構造上の Invadopodia においても、MMP14 が局在し、細胞外基質の分解活性が示された。興味深いことに、SARS-CoV-2 は核近傍に存在する小胞体で複製することが知られている一方で、ウイルス感染によって誘導された Invadopodia においてもウイルス複製が行われていた。これらの結果から、SARS-CoV-2 感染により細胞の浸潤能が活性化され、基底膜を分解し、伸長突起様構造からウイルス複製することでウイルスを血中へ移行させている可能性が示唆される。現在、感染動物モデルでの更なる検証を進めているところである。

細胞骨格・運動

2023/6/28 13:45 ~ 15:15 | C会場

座長：茂木文夫（北大）、末次 志郎（奈良先端大）

O - D1 - C001 - 001

ライブイメージングと定量数理解析で迫る植物受精卵の極性化機構

* 植田 美那子 (サントリー生命科学財団・SunRiSE), 松本 光梨 (東北大・院生命科学), 津川 暁 (秋田県立大・機械工学科), 康 子辰 (秋田県立大・機械工学科), 野々山 朋信 (秋田県立大・機械工学科), 石本 志高 (秋田県立大・機械工学科), 木全 祐資 (東北大・院生命科学), 檜垣 匠 (熊本大・IROAST)
13:45-13:56

O - D1 - C001 - 002

マウス卵減数第二分裂における細胞質流動逆転のメカニズム

* 梶谷 碧 (東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻), 戸塚 隆弥 (東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻 | JSPS 特別研究員), 大杉 美穂 (東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻 | 東京大学大学院総合文化研究科広域科学専攻)
13:56-14:07

O - D1 - C001 - 003

雄性生殖細胞の分化を支えるセルトリ細胞の新たな極性化メカニズム

* 菊池 浩二 (熊本大学発生医学研究所染色体制御分野), 中川 真美 (基礎生物学研究所初期発生研究部門), 藤森 俊彦 (基礎生物学研究所初期発生研究部門), 島田 龍輝 (熊本大学発生医学研究所染色体制御分野), 藤村 幸代子 (熊本大学発生医学研究所リエゾンラボ研究推進施設), 白杵 慎吾 (熊本大学発生医学研究所リエゾンラボ研究推進施設), 安永 桂一郎 (熊本大学発生医学研究所リエゾンラボ研究推進施設), 荒木 喜美 (熊本大学生命資源研究・支援センター疾患モデル分野), 石黒 啓一郎 (熊本大学発生医学研究所染色体制御分野)
14:07-14:18

O - D1 - C001 - 004

ZO-1 の動的挙動による細胞の集団的遊走制御

* 平野 咲雪 (自然科学研究機構 国際連携研究センター), 青木 一洋 (自然科学研究機構 生命創成探究センター), 上野 直人 (自然科学研究機構 国際連携研究センター)
14:18-14:29

O - D1 - C001 - 005

Three-step model of Circular Dorsal Ruffle formation in hepatocellular carcinoma Hep3B cells

* Yanan Li (Nankai University, College of Life Sciences, Tianjin, China), Xiaowei Sun (Nankai University, College of Life Sciences, Tianjin, China), Sei Yoshida (Nankai University, College of Life Sciences, Tianjin, China)
14:29-14:40

O - D1 - C001 - 006

クラスリンは運動する細胞の後方での仮足形成を促進することで極性を破綻させる

* 堤 弘次 (北里大学理学部生物科学科), 小森 涼奨 (北里大学理学部生物科学科), 渡辺 沙也香 (北里大学理学部生物科学科), 清水 あかね (北里大学理学部生物科学科), 深谷 昌弘 (北里大学医学部解剖学), 柴垣 芳夫 (北里大学薬学部生化学), 服部 成介 (北里大学薬学部生化学), 阪上 洋行 (北里大学医学部解剖学), 太田 安隆 (北里大学理学部生物科学科)
14:40-14:51

O - D1 - C001 - 007

細胞外小胞による細胞運動の促進における受容細胞のエンドサイトーシスの役割

* 藤岡 敏史 (奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域 分子医学細胞生物学研究室), 西村 珠子 (奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域 分子医学細胞生物学研究室), 末次 志郎 (奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域 分子医学細胞生物学研究室)
14:51-15:02

O - D1 - C001 - 008

メカノストレス応答に関与する RhoGEF, Solo は PDZ-RhoGEF と共役してアクチン骨格を制御する

* 國富 葵 (東北大・院・生命・分子細胞生物), 千葉 秀平 (東北大・院・生命・分子細胞生物), 東谷 篤志 (東北大・院・生命・分子遺伝生理), 東谷 なほ子 (東北大・院・生命・分子遺伝生理), 水野 健作 (東北大・院・生命・分子細胞生物), 大橋 一正 (東北大・院・生命・分子遺伝生理)
15:02-15:13

13:45-13:56 (2023-06-28 13:45 - 15:15 | C会場)

O - D1 - C001 - 001

ライブイメージングと定量数理解析で迫る植物受精卵の極性化機構

* 植田 美那子 (サントリー生命科学財団・SunRiSE), 松本 光梨 (東北大・院生命科学), 津川 暁 (秋田県立大・機械工学科), 康 子辰 (秋田県立大・機械工学科), 野々山 朋信 (秋田県立大・機械工学科), 石本 志高 (秋田県立大・機械工学科), 木全 祐資 (東北大・院生命科学), 檜垣 匠 (熊本大・IROAST)

キーワード: シロイヌナズナ, 受精卵, ライブイメージング, 定量数理解析

受精卵は多細胞生物における個体発生の原点である。ほとんどの植物種において、受精卵の非対称分裂によって、第一の体軸である上下軸が確立する。上下軸の形成はパターン形成の基盤として重要であるが、受精卵が極性化する過程の細胞内動態や、それが体軸形成に果たす役割など、いまだに多くが謎に包まれている。我々は、シロイヌナズナにおいて、受精卵で生じる様々な事象の時空間動態をつぶさにライブイメージングし、得られた4次元像を精緻に画像解析することで、体軸形成の鍵となる重要な事象群を探索している。さらに、それらを阻害するさまざまな変異体や薬剤を用いた攪乱実験や、定量数理モデルの導出を通じて、各事象が体軸形成に果たす役割にも迫ろうとしている。本発表では、これらの進展について紹介し、受精卵の極性化から始まる植物の体軸形成の仕組みについて議論したい。

13:56-14:07 (2023-06-28 13:45 - 15:15 | C会場)

O - D1 - C001 - 002

マウス卵減数第二分裂における細胞質流動逆転のメカニズム

* 梶谷 碧 (東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻), 戸塚 隆弥 (東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻 | JSPS 特別研究員), 大杉 美穂 (東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻 | 東京大学大学院総合文化研究科広域科学専攻)

キーワード: 細胞質流動, 受精, アクチン, ミオシン, マウス卵

マウスの卵母細胞は減数第二分裂中期で停止しており、受精や人為的刺激により活性化されると分裂後期へ進行して第二極体を放出する。このときに細胞内で生じる様々な変化の一つに細胞質流動がある。分裂中期では、細胞の中央から紡錘体へ向かう外向き流動が Arp2/3 依存的に生じ、紡錘体の膜直下への局在が維持されている。Arp2/3 は、染色体からのシグナルにより活性化されて分枝状アクチンの重合を促進してアクチンキャップ構造を作り、その付近で流動を引き起こす。分裂後期へ進行すると、染色体分配と同時にアクチンキャップが速やかに消え、流動は細胞の中央へ向かう内向き方向に逆転して紡錘体の回転に寄与する。しかしながら、この流動逆転のメカニズムは不明である。

この疑問を解明するために、減数第二分裂中期卵に対して薬剤処理を行い、ライブイメージング及び画像解析により細胞質流動の変化を調べた。まず、分裂後期進行時に生じる現象である CDK1 不活性化のみを中期で引き起こしても流動が逆転した。またこの時、Arp2/3 活性化の起点である染色体が分配せず留まっている状態でもアクチンキャップが消えたが、この消失は微小管依存的であることがわかった。したがって、後期に形成される中央紡錘体からのシグナルにより分枝状アクチンの積極的な脱重合が引き起こされることが示唆された。さらに、分裂後期の CDK1 不活性化は膜直下でのアクチンミオシンを活性化することから、ミオシン II のリン酸化を阻害した状態で後期へ進行させたところ、染色体分配後もアクチンキャップの速やかな消失が見られず、流動も逆転しなかった。以上より、減数第二分裂後期進行時には、CDK1 不活性化による脱リン酸化の亢進を引き金とした収縮環形成の初期過程で微小管依存的なミオシン活性化が起こり、分枝状アクチンの脱重合を伴いながら細胞質流動が逆転する、という仮説が立てられた。

14:07-14:18 (2023-06-28 13:45 - 15:15 | C会場)

O - D1 - C001 - 003

雄性生殖細胞の分化を支えるセルトリ細胞の新たな極性化メカニズム

* 菊池 浩二 (熊本大学発生医学研究所染色体制御分野), 中川 真美 (基礎生物学研究所初期発生研究部門), 藤森 俊彦 (基礎生物学研究所初期発生研究部門), 島田 龍輝 (熊本大学発生医学研究所染色体制御分野), 藤村 幸代子 (熊本大学発生医学研究所リエゾンラボ研究推進施設), 白杵 慎吾 (熊本大学発生医学研究所リエゾンラボ研究推進施設), 安永 桂一郎 (熊本大学発生医学研究所リエゾンラボ研究推進施設), 荒木 喜美 (熊本大学生命資源研究・支援センター疾患モデル分野), 石黒 啓一郎 (熊本大学発生医学研究所染色体制御分野)

キーワード: Map7, セルトリ細胞, 細胞極性, 細胞骨格, 分化制御

極性化したセルトリ細胞は雄性生殖細胞の分化系譜と接着する場を作り出し、その分化を支えると考えられている。しかし、セルトリ細胞の極性化メカニズムや雄性生殖細胞の分化進行のどの段階に関与するのは依然として不明な点が多い。私共は微小管結合タンパク質である Map7 がセルトリ細胞の極性化を確立し、その極性化が雄性生殖細胞のパキテン期の進行に関与する事を見出した。Map7 はセルトリ細胞において内腔方向に偏在化して微小管上に局在した。生後最初の同調した精子形成において、雄性生殖細胞がパキテン期に進行する時期になると、Map7 陽性の微小管が長軸方向に配向するようになった。この時期に、Map7 はセルトリ細胞の基底膜側への移動や内腔側で生じるアクチンリモデリングに必須であった。また、Map7 は微小管の安定性ではなく配向性を制御してセルトリ細胞の極性化を制御した。さらに、セルトリ細胞の極性化が破綻すると、雄性生殖細胞の分化進行のうちで、まず初めにパキテン期の進行に異常が生じる事が明らかになった。以上の事から、Map7 はセルトリ細胞において微小管の配向性を制御する事で極性化を確立し、その極性化が雄性生殖細胞のパキテン期の正確な進行に必要な事が明らかになった。

ZO-1 の動的挙動による細胞の集団的遊走制御

* 平野 咲雪 (自然科学研究機構 国際連携研究センター), 青木 一洋 (自然科学研究機構 生命創成探究センター), 上野 直人 (自然科学研究機構 国際連携研究センター)

キーワード: ZO-1, タイトジャンクション, 液-液相分離, 細胞遊走, 細胞接着

細胞間接着構造の一種であるタイトジャンクションは、ZO-1 を主要な足場タンパク質として多種のタンパク質が組織化しており、隣接細胞同士を密着させることで上皮組織のバリア機能等を担っている。近年、このタイトジャンクションの形成が、ZO-1 を中心とした液-液相分離によって駆動されることが明らかにされた。また我々のグループでは、ZO-1 がタイトジャンクションだけではなく細胞質においても液-液相分離によって凝集体を形成しており、この細胞質凝集体が力学的刺激に応答して生成・消失することなどを明らかにした。本研究では、この ZO-1 のダイナミックな局在変化が細胞集団遊走において果たす役割について調べた。まず、細胞集団遊走時の ZO-1 の局在変化を観察したところ、タイトジャンクション・細胞質凝集体の他に、細胞の基底面においても ZO-1 が一過的に集積し構造体を形成していることが観察された。この基底面の ZO-1 構造体は、遊走する細胞の前端部分において観察され、細胞の集団遊走に伴ってその形成は集団後方へと波状に伝播していることがわかった。また、免疫蛍光観察時にアクチンフィラメントとの共局在が観察されたことや、アクチン結合ドメインを欠失した ZO-1 ではその形成が観察されなかったことなどから、基底面の ZO-1 構造体の形成はアクチン依存的事であることが示唆されており、細胞の力学的性質や遊走能の制御に関与している可能性が考えられる。本発表では、これまでタイトジャンクションで静的な構造体形成を担っていると考えられてきた ZO-1 が、タイトジャンクション・細胞質凝集体・基底面構造体という三つの構造体にまたがってその局在をダイナミックに変化させ、細胞の集団的遊走において細胞-細胞間、細胞-基質間の力学的相互作用を協調的に制御する可能性について提案する。

Three-step model of Circular Dorsal Ruffle formation in hepatocellular carcinoma Hep3B cells

* Yanan Li (Nankai University, College of Life Sciences, Tianjin, China), Xiaowei Sun (Nankai University, College of Life Sciences, Tianjin, China), Sei Yoshida (Nankai University, College of Life Sciences, Tianjin, China)

キーワード: Circular Dorsal Ruffle, hepatocellular carcinoma, Paxillin

Background: Circular dorsal ruffles (CDRs) are large rounded membrane ruffles induced by growth factor (GF) stimulations. We recently found that the hepatocellular carcinoma (HCC) cell line Hep3B expresses CDRs after GF treatment and proposed that CDRs are involved in GF signal transduction (CCS, 2022, PMID:35799301). Paxillin is a multifunctional focal adhesion adaptor protein that recruits specific kinases and structural proteins. Paxillin activates these signaling molecules to reorganize the actin cytoskeleton. Based on these backgrounds, in this project we investigated the molecular mechanism of CDR formation in Hep3B cells focusing on the role of paxillin.

Methods: Three established HCC cell lines, HepG2, Huh7, and Hep3B were treated with hepatocyte growth factor (HGF). CDRs were observed by live-cell imaging, scanning electron microscopy (SEM), and confocal microscopy. Results and Discussions: HGF treatment induced CDRs in Hep3B cells but not in other cells. Live-cell imaging showed that unique "punctate structures" appeared in Hep3B cells immediately after HGF stimulation and that formation of CDR originated from these structures. SEM revealed that lamellipodia originated vertically from the surface of HGF-stimulated cells. The lamellipodia formed round but disconnected patterns. These results suggest that independent lamellipodia develop from the "punctate structures" and form a CDR by interacting with each other. Confocal microscopy showed that paxillin was localized at the basis of the CDR. N-WASP inhibitor treatment blocked the formation of CDR, while the "punctate structures" reserves in which paxillin was localized. This suggests that paxillin at the structures induces actin polymerization as a crucial role of the formation of CDR. Conclusion: Based on our findings, we propose that the formation of CDR consists of at least three steps: 1) GF stimulation induces "punctate structures" as the basis of a CDR, 2) lamellipodia arise from the structures via actin polymerization, and 3) lamellipodia are interacted to form a CDR. If this is the case, paxillin would be a key molecule for regulating the distribution of "punctate structures" and triggering lamellipodia development. We would be happy to discuss our model with members of the Japanese Society of Cell Biology.

クラスリンは運動する細胞の後方での仮足形成を促進することで極性を破綻させる

* 堤 弘次 (北里大学理学部生物科学科), 小森 涼奨 (北里大学理学部生物科学科), 渡辺 沙也香 (北里大学理学部生物科学科), 清水 あかね (北里大学理学部生物科学科), 深谷 昌弘 (北里大学医学部解剖学), 柴垣 芳夫 (北里大学薬学部生化学), 服部 成介 (北里大学薬学部生化学), 阪上 洋行 (北里大学医学部解剖学), 太田 安隆 (北里大学理学部生物科学科)

キーワード: クラスリン, 細胞運動, 極性, Rac, アクチン

細胞運動は細胞に極性が形成されることで起こる、発生や創傷治癒など生命の様々な局面に関わる現象である。細胞が運動する推進力は、分枝状アクチン繊維の重合により形成される葉状仮足によって生み出される。葉状仮足が進行方向にのみ維持されることで、細胞は持続的な運動が可能となる。FilGAPは葉状仮足の形成を阻害するRac特異的GAPタンパク質である。今回、我々はFilGAPはクラスリン重鎖(CHC)に結合し、この相互作用が極性形成に重要であることを明らかにした。CHCはFilGAPに直接結合し、FilGAPのGAP活性を抑制した。FilGAPとCHCの結合領域を同定し、点変異によるFilGAPおよびCHCの結合不全変異体を作成することに成功した。FilGAPはCdk5によってリン酸化され、このリン酸化はCHCとの結合を阻害した。運動する細胞においてCdk5によってリン酸化されたFilGAPは後方に局在していた。FilGAPを欠損させると、創傷治癒時の運動する細胞において傷以外の方向に葉状仮足が形成され、速度と直進性が低下し、傷の修復が遅くなった。同様にFilGAPのCdk5によるリン酸化を阻害しても傷の修復が遅くなった。これらの結果から、Cdk5によりリン酸化されたFilGAPは運動する細胞の後方で葉状仮足形成を阻害することで、極性の維持に寄与していることが分かった。一方でCHCの発現抑制は傷の修復を促進したが、FilGAP欠損細胞ではCHCを発現抑制しても傷の修復は遅いままであった。さらに結合不全変異体を用いた実験からも、CHCとFilGAPが結合すると傷の修復を遅らせることが分かった。以上の結果から、クラスリンはFilGAPを阻害することで、細胞運動時の極性を破綻させる働きを持つことが明らかとなった。

細胞外小胞による細胞運動の促進における受容細胞のエンドサイトーシスの役割

* 藤岡 敏史 (奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域 分子医学細胞生物学研究室), 西村 珠子 (奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域 分子医学細胞生物学研究室), 末次 志郎 (奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域 分子医学細胞生物学研究室)

キーワード: 細胞外小胞, 細胞運動, エンドサイトーシス, BARタンパク質, Rac1

細胞外小胞(EV)は、細胞外に放出される脂質膜小胞である。細胞外小胞は、しばしば、受容細胞にとりこまれ、受容細胞の挙動を変化させる。ところが、細胞外小胞が受容細胞内でどのような経路を経て作用するか、不明な点が多い。EVは、主に細胞膜の切断とエンドソーム内腔の膜小胞の放出の二つの主要な経路が考えられている。MIMを含むInverse-BAR(I-BAR)タンパク質は、細胞突起の形成に関与し、これらの突起は、EV産生に寄与するが、その作用機序は不明である。これまでの研究は、MIM依存的に分泌されるEVを含むEV画分は、創傷治癒における細胞運動を促進し、その促進にはEV中の低分子Gタンパク質Rac1活性が必要であった。そこで本研究では、MIM発現細胞由来のEVの作用機序を調べるために、EVを処理した細胞でのEVのエンドサイトーシスを調べた。まず、EVに含まれるRac1にタグを付加し、受容細胞をEVで処理し、十分時間をおいた後にその局在を調べたところ、点状に局在したことからEVのエンドサイトーシスが示唆された。エンドサイトーシスはダイナミンタンパク質による脂質膜の切断が関与する場合が多く、CIP4はダイナミンの結合タンパク質であり、エンドサイトーシスに関与することが知られている。CIP4欠損細胞では、EVによる細胞運動の増加がみられず、また、野生型細胞のダイナミン阻害でも、同様であった。興味深いことに、CIP4欠損細胞では、ダイナミン阻害によるEV依存性の細胞運動の増加がみられなかった。次に、MIMを含むEVの受容細胞における挙動を追跡したところ、EVが細胞に付着後、CIP4とEVは共局在し、その後、細胞の内側に移動した。したがって、MIMを含むEVは、CIP4およびダイナミン依存的なエンドサイトーシスにより取り込まれることが、細胞運動の増加に必要なであると示唆された。

メカノストレス応答に関与する RhoGEF, Solo は PDZ-RhoGEF と共役してアクチン骨格を制御する

* 國富 葵 (東北大・院・生命・分子細胞生物), 千葉 秀平 (東北大・院・生命・分子細胞生物), 東谷 篤志 (東北大・院・生命・分子遺伝生理), 東谷 なほ子 (東北大・院・生命・分子遺伝生理), 水野 健作 (東北大・院・生命・分子細胞生物), 大橋 一正 (東北大・院・生命・分子遺伝生理)

キーワード: RhoGEF, アクチン, Solo, メカノバイオロジー, BioID

生体内の細胞は機械的な刺激を感知し、応答することで多様な生理機能を実現している。この「力覚応答」と呼ばれる細胞応答において、主要な働きを担う機構の1つがアクチン骨格の再構築である。アクチン骨格は動的に再構築を繰り返す構造で、細胞の形態や力の発生を制御している。この再構築を制御する Rho ファミリー低分子量 G タンパク質は、ヒトでは約 20 種類存在し、各々が下流エフェクタータンパク質群を介して特異的なアクチン構造を形成する。そして、Rho タンパク質群を活性化する RhoGEF 蛋白質群はヒトゲノムに約 80 種類コードされ、これら多種の RhoGEF が個々の Rho タンパク質を適切なタイミングや場所で活性化することで、細胞は多種多様な刺激や環境に対して細分化された適切な応答を行うことが可能になったと考えられている。私たちはこれまでに、力覚応答に関与する RhoGEF として Solo を特定した。Solo は、細胞の収縮力発生部位に集積することや、細胞への張力負荷依存的な RhoA の活性化に必要であることを示してきたが、Solo が力覚応答に関与する分子メカニズムは不明であった。今回、私たちは近位依存性ビオチン標識 (BioID) 法によって、PDZ-RhoGEF (PRG) を Solo の相互作用タンパク質の1つとして同定した。PRG と Solo との相互作用を解析した結果、PRG は細胞内で Solo の局在部位に集積し、その部位で Solo によって誘導される特徴的なアクチン構造を増強すること、また、各々の過剰発現による細胞内の RhoA の活性化には内在性の他方が必要であり、両 RhoGEF が共役して働くことを見出した。以上の結果から、Solo は、PRG を自身の局在箇所へ誘導することで RhoA を相乗的に活性化し、Solo 局在箇所のアクチン構造を増強することで力覚応答に寄与することが強く示唆された。

細胞内輸送・オルガネラ・生体膜・タンパク質の一生

2023/6/28 13:45 ~ 15:15 | D会場

座長：佐藤 健 (群馬大)、東山 哲也 (東大)

O - D1 - D001 - 001

ミトコンドリアに輸送される核コード RNA の網羅的探索手法の開発

* 篠田沙緒里 (京都産業大学 生命科学部), 坂本智昭 (京都産業大学 生命科学部), 木村成介 (京都産業大学 生命科学部), 遠藤斗志也 (京都産業大学 生命科学部)

13:45-13:56

O - D1 - D001 - 002

マウス卵減数第二分裂における紡錘体-細胞表層間ミトコンドリア局在の形成とその意義について

* 近藤 興 (東京大学大学院総合文化研究科), 大杉 美穂 (東京大学大学院総合文化研究科 | 東京大学大学院理学系研究科)

13:56-14:07

O - D1 - D001 - 003

カルシウムイオンチャネル IP3R は小胞体レドックスによって自律的に制御される

* 藤井 唱平 (京都産業大学生命科学研究科), 潮田 亮 (京都産業大学生命科学研究科), 永田 和宏 (JT 生命誌研究館)

14:07-14:18

O - D1 - D001 - 004

植物の重複受精過程で観察される精細胞を包む単膜の選択的崩壊機構の解析

* 杉 直也 (横浜市大・木原生研), 泉 理恵 (横浜市大・木原生研), 須崎 大地 (横浜市大・木原生研), 海老根 一生 (基生研・細胞動態 | 総研大・生命科学), 木下 哲 (横浜市大・木原生研), 丸山 大輔 (横浜市大・木原生研)

14:18-14:29

O - D1 - D001 - 005

Rab21 は Rab5 と異なる物質輸送経路を制御する

* 伊藤志帆 (京都大学大学院医学研究科生体環境応答学講座 | 京都大学大学院医学研究科健康加齢医学講座 | 神戸医療産業都市推進機構先端医療研究センター老化機構研究部), 鹿内弥磨 (慶應義塾大学医学部生理学教室), 福田光則 (東北大学大学院生命科学研究所膜輸送機構解析分野), 柚崎通介 (慶應義塾大学医学部生理学教室), 鍋島陽一 (京都大学大学院医学研究科健康加齢医学講座 | 神戸医療産業都市推進機構先端医療研究センター老化機構研究部), 川内健史 (京都大学大学院医学研究科生体環境応答学講座 | 京都大学大学院医学研究科健康加齢医学講座 | 神戸医療産業都市推進機構先端医療研究センター老化機構研究部 | 慶應義塾大学医学部生理学教室)

14:29-14:40

O - D1 - D001 - 006

出芽酵母ホスファチジルセリンフリッパーゼによるリサイクリング経路の制御機構の解析

* 落合 憧由美 (東京理科大学先進工学研究科生命システム工学専攻十島研究室)

14:40-14:51

O - D1 - D001 - 007

多様なオルガネラ膜脂質環境の可視化を目指した脂質プローブ作製技術

* 西村 多喜 (東大院・医・分子生物 | JST さきがけ), 水島 昇 (東大院・医・分子生物)

14:51-15:02

O - D1 - D001 - 008

小胞体ストレス応答における翻訳時分解を介したプロテオスタシス制御

* 門脇 寿枝 (宮崎大学医学部機能生化学), 西頭 英起 (宮崎大学医学部機能生化学)

15:02-15:13

ミトコンドリアに輸送される核コード RNA の網羅的探索手法の開発

* 篠田沙緒里 (京都産業大学 生命科学部), 坂本智昭 (京都産業大学 生命科学部), 木村成介 (京都産業大学 生命科学部), 遠藤斗志也 (京都産業大学 生命科学部)

キーワード: ミトコンドリア, RNA, 近位依存性標識法, RNA イメージング, 酵母

ミトコンドリアは、ミトコンドリアの外からタンパク質や脂質を取り込むことで、拡大し機能を発揮する。加えて、RNA がミトコンドリアへ輸送され機能しうることが複数の生物種で報告されている。しかし、ミトコンドリア内の RNA のみを解析する手法が確立されていないことから、輸送される RNA の種類、輸送の分子機構および生理的意義の理解は遅れている。

本研究では真核生物のモデル生物である出芽酵母を用い、ミトコンドリア内の RNA の網羅的探索を通してミトコンドリアに輸送される核コード RNA の同定を目指した。まず、ミトコンドリアの内外を区別するために、ミトコンドリア内の RNA をミトコンドリアマトリクスに局在させた APEX2 によってビオチン化する手法を確立した。ビオチン化 RNAseq の解析から、ミトコンドリア DNA にコードされた mRNA と同程度にビオチン化された機能未知の核コード RNA を同定した。同定した核コード RNA は single molecule fluorescence in situ hybridization (smFISH) 法によりミトコンドリアに局在することを確認した。遺伝子欠損細胞株の解析から、輸送された RNA はミトコンドリアの呼吸活性および膜電位調節に関係する可能性が示唆された。本研究によりミトコンドリアに輸送される RNA の網羅的探索が可能となり、今後 RNA の輸送機構の解明および輸送される RNA の機能解析が進むことが期待される。

マウス卵減数第二分裂における紡錘体 - 細胞表層間ミトコンドリア局在の形成とその意義について

* 近藤 興 (東京大学大学院総合文化研究科), 大杉 美穂 (東京大学大学院総合文化研究科 | 東京大学大学院理学系研究科)

キーワード: 卵母細胞, 減数分裂, ミトコンドリア, 紡錘体

細胞がオルガネラを配置させる場所は機能発現と関連していると考えられる。マウス卵において受精を待つ減数第二分裂中期 (MII 期) では、極体放出に備えて紡錘体が細胞表層に沿って位置している。この時期の紡錘体にミトコンドリア (mt) が集合することが報告されているが、その仕組みや意義は不明である。本研究では、mt が紡錘体と細胞表層の間で特に中期板に沿って集積していることを見出した。この mt を MiCS: Mitochondria that localized between the Cell cortex and Spindle と呼ぶことにした。MiCS の形成の要因を調べるために、各種薬剤処理を行ったところ、紡錘体微小管とその紡錘体が細胞膜に近接することが必要であった。GV 期からの in vitro maturation で得た MII 期卵 (IVM 卵) を観察すると、培地によって正常な MiCS 形成をする場合と異常な mt 集積をする場合があることを見出した。前者の培地で得た IVM 卵では、紡錘体位置が安定していたのに対し、後者は不安定で、それに伴い表層アクチン等の再構成が行われていた。また、後者の培地で得た IVM 卵は、単為発生刺激をしても染色体分離する卵がほとんど得られなかった。そこで spindle assembly checkpoint (SAC) を阻害したところ、細胞周期が進行した。この方法で極体放出過程を観察したところ、MiCS のある正常卵では mt が極体に移行しないのに対し、MiCS 異常卵では極体に mt が取り込まれた。以上のことから、MiCS を形成することは極体放出前の紡錘体位置の安定化と、極体放出後に mt を母細胞に残す仕組みに関連すると考えられる。一方、MiCS が一見あっても単為発生刺激に応答しない卵があったことから、mt と SAC の関係は今後の検討が必要である。

カルシウムイオンチャネル IP3R は小胞体レドックスによって自律的に制御される

* 藤井 唱平 (京都産業大学生命科学研究科), 潮田 亮 (京都産業大学生命科学研究科), 永田 和宏 (JT 生命誌研究館)

キーワード: 小胞体, カルシウム, IP3R, レドックス

小胞体は分泌タンパク質や膜タンパク質の立体構造形成 (フォールディング) の場として働くだけでなく、カルシウムストアとしての役割も担っており、サイトゾルへの一過的なカルシウム放出はシグナル伝達において重要なプロセスである。このシグナル依存的なカルシウム放出を行うカルシウムイオンチャネルの一つが、小胞体膜上に存在する IP3R であり、その適切な制御はシグナル伝達のために必須と言える。様々な病理学的解析や疾患・老化モデルにおいて IP3R のチャネル活性異常が認められ、酸化ストレスによる影響なども示唆されてきたが、酸化還元 (レドックス) による制御の分子メカニズムは全く明らかになっていなかった。

我々は小胞体内腔の環境に注目して、レドックスに関与する酸化還元酵素群の網羅的な遺伝子欠損細胞株ライブラリを樹立し、その遺伝子欠損細胞のオルガネラ環境を各種センサータンパク質により測定してきた。小胞体内腔のようなサイトゾルよりも酸化的な環境を測定するに足るレドックスセンサータンパク質が存在しなかったため、新規開発から取り組んだ。スクリーニングの結果、細胞内で IP3R の酸化・還元反応に必要な責任酵素として ERp46 と ERdj5 をそれぞれ同定した。加えて、IP3R のレドックス状態によってチャネル活性そのものが制御されることを見出した。このレドックスによる活性変化は、研究の進んでいるサイトゾルドメインでのリン酸化制御と独立した制御であることを示唆するデータも得ており、小胞体の内腔からかかる新たな制御機構であることを明らかにした。これらの発見から、疾患などによって酸化ストレスが引き起こされたとき、過剰に活性化が見られる理由の一つとして IP3R のレドックス状態そのものの変化に帰着することが出来ると考えている。

植物の重複受精過程で観察される精細胞を包む単膜の選択的崩壊機構の解析

* 杉 直也 (横浜市大・木原生研), 泉 理恵 (横浜市大・木原生研), 須崎 大地 (横浜市大・木原生研), 海老根 一生 (基生研・細胞動態 | 総研大・生命科学),

木下 哲 (横浜市大・木原生研), 丸山 大輔 (横浜市大・木原生研)

キーワード: 膜崩壊, シロイヌナズナ, 精細胞, Calcium, 重複受精

被子植物の精細胞は花粉管の中を通過して卵細胞の元へと届けられる。精細胞は自身の細胞膜に加えて、その外側を将来的に花粉管を形成する栄養細胞由来の膜にも覆われる。この単膜を我々は Inner Vegetative Plasma Membrane (IVPM) と呼んでいる。精細胞が卵細胞および中央細胞と膜融合するためには、花粉管から放出された直後に外側を覆う IVPM が取り除かれて精細胞膜を露出する必要があるが、IVPM のダイナミクスについてはこれまで明らかにされてこなかった。本発表では、*in vivo* および *in vitro* 系において IVPM 崩壊による精細胞膜露出が花粉管破裂による精細胞放出後約 1 分という短い時間で達成されることを報告する。さらに、*in vitro* 系の培養条件を検討した結果、 Ca^{2+} 欠乏培地を用いた場合に IVPM 崩壊が有意に起こりにくくなることを明らかにした。さらに、この Ca^{2+} 欠乏条件で単離した intact な IVPM をマイクロマニピュレーターを用いて Ca^{2+} 含有培地に移動させるだけで約 90% の IVPM が崩壊誘導された。この IVPM 崩壊は EGTA 添加条件下では Ca^{2+} 欠乏培地による対照実験と同程度まで抑制されたことから Ca^{2+} が IVPM 崩壊に重要であることが明らかとなった。これまでにもカルシウムセンサーを用いたライブイメージングによって、重複受精過程における Ca^{2+} スパイクの重要性が示唆されていたものの、それらの生物学的意義は不明瞭であった。本演題では重複受精過程で観察される Ca^{2+} スパイクの新たな生物学的意義として、IVPM 崩壊のトリガーとして働いて精細胞と卵細胞の細胞膜融合に向けた精細胞膜露出ステップの達成に寄与している可能性について議論したい。

14:29-14:40 (2023-06-28 13:45 - 15:15 | D会場)

O - D1 - D001 - 005

Rab21 は Rab5 と異なる物質輸送経路を制御する

* 伊藤志帆 (京都大学大学院医学研究科生体環境応答学講座 | 京都大学大学院医学研究科健康加齢医学講座 | 神戸医療産業都市推進機構先端医療研究センター老化機構研究部), 鹿内弥磨 (慶應義塾大学医学部生理学教室), 福田光則 (東北大学大学院生命科学研究所膜輸送機構解析分野), 柚崎通介 (慶應義塾大学医学部生理学教室), 鍋島陽一 (京都大学大学院医学研究科健康加齢医学講座 | 神戸医療産業都市推進機構先端医療研究センター老化機構研究部), 川内健史 (京都大学大学院医学研究科生体環境応答学講座 | 京都大学大学院医学研究科健康加齢医学講座 | 神戸医療産業都市推進機構先端医療研究センター老化機構研究部 | 慶應義塾大学医学部生理学教室)

キーワード: エンドサイトーシス, Rab タンパク質, カベオリン, 細胞内輸送, エンドソーム

細胞膜タンパク質や細胞外物質は、主にクラスリンあるいはカベオリン依存性のエンドサイトーシスによって取り込まれた後、初期エンドソームに集約されて選別される。Rab タンパク質の一つである Rab5 と Rab21 は、共に初期エンドソームに局在し、特に Rab5 はほぼ全てのエンドサイトーシス経路を制御すると考えられている。しかし実際に Rab5 と Rab21 の局在を調べてみると、初期エンドソームにおいてごく一部しか共局在しなかったことから、これらは異なる役割を果たすことが示唆された。そこで Rab5 と Rab21 が基質の取り込みと輸送に与える影響を調べた。

まず、クラスリン依存的に取り込まれるトランスフェリン (Tf) の輸送を観察したところ、Rab5 の発現抑制は Tf の輸送を阻害したが、Rab21 の発現抑制ではほとんど影響がなかった。一方で、Rab5 を発現抑制しても Tf 受容体の表面量は変わらなかったことから、Rab5 は Tf の輸送には関わるが細胞膜からの取り込みには寄与しないことが示唆された。

これに対して、カベオリン依存的に取り込まれるコレラトキシン (CTxB) の輸送を観察したところ、Rab21 の発現抑制は CTxB の輸送を阻害したが Rab5 の発現抑制では影響がなかった。さらに Rab21 と caveolin-1 との関係について検討したところ、Rab21 は細胞膜上で caveolin-1 と共局在しており、Rab21 を発現抑制すると細胞膜上の caveolin-1 量が減少し、その結果 caveolin-1 がリソソームに運ばれて分解されることがわかった。これらより Rab21 は caveolin-1 が正常に細胞膜局在し機能するために必要であることが示された。

本発表ではこれらの結果について報告し、物質輸送において、エンドサイトーシス経路が細胞膜の時点から異なる意義とその機構について議論したい。

14:40-14:51 (2023-06-28 13:45 - 15:15 | D会場)

O - D1 - D001 - 006

出芽酵母ホスファチジルセリンフリッパーゼによるリサイクリング経路の制御機構の解析

* 落合 憧由美 (東京理科大学先進工学研究科生命システム工学専攻十島研究室)

キーワード: エンドサイトーシス, ホスファチジルセリン, フリッパーゼ, リサイクリング, 分泌経路

生体膜を構成するリン脂質の一種であるホスファチジルセリン (PS) は脂質二重層において細胞質側に偏った分布をしており、出芽酵母においてはゴルジ体や細胞膜に多く存在する。PS の非対称的な局在は細胞膜タンパク質であるフリッパーゼによって調節されており、出芽酵母においては Drs2p、Dnf1p、Dnf2p、Dnf3p の 4 種類が同定されている。DRS2、DNF1/2/3 は非必須遺伝子であるが、これらの遺伝子四重欠損変異体は致死であるため、互いに重複した機能を有していると考えられている。以前の研究においてこれら非必須フリッパーゼの重複した機能を明らかにするために、単一、及び二重、三重欠損変異体を作成し、各変異体における細胞内小胞輸送経路における影響を解析した。この結果、DRS2DNF1DNF3 三重欠損株が重篤な異常を示し、Drs2p がリサイクリング経路において重要であることが示唆された。しかし、これらのフリッパーゼの欠損がなぜリサイクリングに異常を示すかについては不明であった。本研究では、DRS2DNF1DNF3 三重欠損株にみられる膜タンパク質のリサイクリング異常の原因を明らかにするために、ゴルジ体に局在するリサイクリング関連タンパク質の局在を調べた。この結果、クラスリンアダプタータンパク質 Epsin および、リサイクリング関連タンパク質である Snx4p、Vps26p などの局在の異常を示すことが分かった。また、各フリッパーゼのゴルジ体内の詳細な局在を調べた結果、これらのフリッパーゼは TGN 内において異なる局在を示すことが分かった。これらの結果より、PS フリッパーゼが TGN 内の PS の配向性を変えることで、リサイクリング関連タンパク質の局在制御に関わることが示唆された。

14:51-15:02 (2023-06-28 13:45 - 15:15 | D会場)

O - D1 - D001 - 007

多様なオルガネラ膜脂質環境の可視化を目指した脂質プローブ作製技術

* 西村 多喜 (東大院・医・分子生物 | JST さきがけ), 水島 昇 (東大院・医・分子生物)

キーワード: 脂質プローブ, ナノボディ, オルガネラ膜

生体内には多種多様な脂質分子種が存在することが知られている。最先端のリビドミクス解析技術を用いた研究によると、数千種類を超える脂質分子種が生化学的に検出されている。その一方で、オルガネラ膜の膜脂質環境を細胞内で可視化する技術の開発は非常に遅れており、膜脂質研究が進展しない主な原因となっている。特に、ナノスケールレベルの多様なオルガネラ膜脂質環境はその存在が予想されているものの、実際のところはほとんど可視化出来ていない状況にある。この根本的な問題を解決するため、私たちは現在、脂質プローブ作製技術の開発に取り組んでいる。独自に確立した脂質プローブオンデマンド作製技術を紹介するとともに、その有用性について議論する。

小胞体ストレス応答における翻訳時分解を介したプロテオスタシス制御

* 門脇 寿枝 (宮崎大学医学部機能生化学), 西頭 英起 (宮崎大学医学部機能生化学)

キーワード: タンパク質分解, 小胞体ストレス応答, プロテオスタシス

真核細胞の全タンパク質のうち、シグナル配列を持つ分泌・膜タンパク質は、小胞体内へ挿入され、正しく折畳まれて適切な場所へと輸送され機能する。しかし、様々なストレス環境下では、折畳み異常タンパク質が小胞体内に蓄積するため、細胞はこれらを修復・分解する品質管理機構をもつ。同時に、小胞体内でのタンパク質折畳み許容量を回復するため、小胞体膜近傍での翻訳抑制や mRNA の分解により小胞体へのタンパク質輸送が制限される。しかし、このシステムを免れて合成されたタンパク質は、小胞体への過剰負荷となるため、細胞質で翻訳時分解 (ER stress-induced pre-emptive quality control : ERpQC) される。我々はこれまでに ERpQC の分子機構として、小胞体膜局在 Derlin が、signal recognition particle (SRP) およびトランスロコンと小胞体ストレス依存的に結合することで、新規合成タンパク質の運命が「小胞体への翻訳時輸送」から「細胞質での翻訳時分解」に変更され、小胞体膜型 E3 リガーゼ HRD1 によってユビキチン化され、AAA-ATPase p97 とシャペロン Bag6 を介してプロテアソーム分解されることを報告した。さらに最近、ERpQC により細胞質へ局在変更したタンパク質は、翻訳抑制を伴い、効率よく分解されることを見出し、その翻訳抑制破綻は細胞質でタンパク質凝集を惹起することが分かった。これらの結果は、小胞体品質管理の異常は小胞体に限らず、細胞質のプロテオスタシスをも破綻させ、凝集タンパク質に起因する神経変性疾患などの病態に関わる危険性をはらんでいる。本発表では、小胞体膜上で「翻訳時輸送」から「翻訳時分解」に運命変更する分子機構と翻訳制御機構について紹介し、ストレス時の小胞体と細胞質でのタンパク質の品質維持について理解を深める場としたい。

若手最優秀発表賞選考会

2023/6/28 17:10 ~ 19:40 | A会場

座長：大澤 志津江 (名古屋大学大学院理学研究科)、青木一洋 (自然科学研究機構生命創成探究センター)

Y - D1 - A001 - 001

細胞キラリティは葉状仮足と焦点接着斑の左右非対称な形成を介して細胞集団のキラルな回転運動を生み出す

* 石橋 朋樹 (理化学研究所 生命機能科学研究センター フィジカルバイオロジー研究チーム), 山本 尚貴 (理化学研究所 生命機能科学研究センター 生体非平衡物理学理研白眉研究チーム), 荻田 豪士 (理化学研究所 生命機能科学研究センター フィジカルバイオロジー研究チーム), 竹市 雅俊 (理化学研究所 生命機能科学研究センター 高次構造形成研究チーム), 柴田 達夫 (理化学研究所 生命機能科学研究センター フィジカルバイオロジー研究チーム)

17:10-17:25

Y - D1 - A001 - 002

“Kick-me-out” シグナル、FGF21 の発現誘導を介したがん抑制型細胞競合の分子機構の解明

* 小川基行 (東京大学大学院薬学系研究科細胞情報学教室), 名黒功 (東京大学大学院薬学系研究科細胞情報学教室), 一條秀憲 (東京大学大学院薬学系研究科細胞情報学教室)

17:25-17:40

Y - D1 - A001 - 003

UFM1 システムは CYB5R3 の Ufmylation を介して ER-phagy を制御する

* 石村 亮輔 (順天堂大学医学部生理学第二講座), 能代 大輔 (北海道大学遺伝子病制御研究所生命分子機構分野), 植村 武文 (福島県立医科大学医学部解剖組織学講座), 和栗 聡 (福島県立医科大学医学部解剖組織学講座), 野田 展生 (北海道大学遺伝子病制御研究所生命分子機構分野), 小松 雅明 (順天堂大学医学部生理学第二講座)

17:40-17:55

Y - D1 - A001 - 004

繊維病関連タンパク質 HYLS1 による中心小体微小管の高次構造化機構

* 竹田 穰 (東京大学大学院薬学系研究科), 知念 拓実 (東京大学大学院薬学系研究科), 本田 俊之介 (東京大学大学院薬学系研究科), 高鳥 翔 (東京大学大学院薬学系研究科), 富田 泰輔 (東京大学大学院薬学系研究科), 畠 星治 (東京大学大学院薬学系研究科), 北川 大樹 (東京大学大学院薬学系研究科)

17:55-18:10

Y - D1 - A001 - 005

Cholesterol-rich domain formation mediated by ZO proteins is essential for tight junction formation

* Kenta Shigetomi (Department of Biology · Faculty of Science · Kyushu University), Yumiko Ono (Department of Biology · Faculty of Science · Kyushu University), Kenji Matsuzawa (Department of Biology · Faculty of Science · Kyushu University), Junichi Ikenouchi (Department of Biology · Faculty of Science · Kyushu University)

18:10-18:25

Y - D1 - A001 - 006

クライオ電子線トモグラフィーにより明らかとなった核膜孔複合体の構造頑健性の細胞分化における重要性

* 谷口怜哉 (マックスプランク生物物理学研究所), Clarisse Orniacki (ジャックモノー研究所), Beata Turonova (マックスプランク生物物理学研究所), Valerie Doye (ジャックモノー研究所), Martin Beck (マックスプランク生物物理学研究所)

18:25-18:40

Y - D1 - A001 - 007

STING 自然免疫シグナルの終結機構：リソソームによる細胞質内包化・分解現象の発見

* 朽津 芳彦 (福島県立医科大学医学部), 向井 康治朗 (東北大学大学院生命科学系研究科), 和栗 聡 (福島県立医科大学医学部), 田口友彦 (東北大学大学院生命科学系研究科)

18:40-18:55

Y - D1 - A001 - 008

生殖細胞における中心体数の分子制御

* 澁谷大輝 (理化学研究所生命機能科学研究センター | University of Gothenburg, Department of Chemistry and Molecular Biology)

18:55-19:10

STREAMING-tag による転写活性と転写制御関連因子の時空間的な関連性の解明

* 大石 裕晃 (九州大学 生体防御医学研究所 遺伝子発現動態学分野), 島田 聖瑠 (広島大学大学院 統合生命科学研究科), 内野 哲志 (東京工業大学 生命理工学院), Jieru Li (スローンケタリング記念がんセンター 構造生物学プログラム), 佐藤 優子 (東京工業大学 生命理工学院 | 東京工業大学 科学技術創成研究院), 新谷 学文 (広島大学大学院 統合生命科学研究科), 大和田 一志 (九州大学 生体防御医学研究所 遺伝子発現動態学分野), 大川 恭行 (九州大学 生体防御医学研究所 トランスクリプトミクス分野), Pertsinidis Alexandros (スローンケタリング記念がんセンター 構造生物学プログラム), 山本 卓 (広島大学大学院 統合生命科学研究科), 木村 宏 (東京工業大学 生命理工学院 | 東京工業大学 科学技術創成研究院), 落合 博 (九州大学 生体防御医学研究所 遺伝子発現動態学分野)
19:10-19:25

ショウジョウバエ卵巣体細胞における piRNA 生合成の場 Yb body への Piwi 局在化機構とその制御

* 平形 樹生 (東京大学), 藤田 あおい (東京大学), 塩見 美喜子 (東京大学)
19:25-19:40

細胞キラリティは葉状仮足と焦点接着斑の左右非対称な形成を介して細胞集団のキラルな回転運動を生み出す

* 石橋 朋樹 (理化学研究所 生命機能科学研究センター フィジカルバイオロジー研究チーム), 山本 尚貴 (理化学研究所 生命機能科学研究センター 生体非平衡物理学理研白眉研究チーム), 荻田 豪士 (理化学研究所 生命機能科学研究センター フィジカルバイオロジー研究チーム), 竹市 雅俊 (理化学研究所 生命機能科学研究センター 高次構造形成研究チーム), 柴田 達夫 (理化学研究所 生命機能科学研究センター フィジカルバイオロジー研究チーム)

キーワード: 細胞キラリティ, 左右非対称形成性, 集団回転運動, 焦点接着斑, 細胞骨格

様々な生物種において, 器官の左右非対称な形態は, その機能の発現と維持に必須である. 臓器の捻じれや屈曲などの左右非対称な形態形成運動は, 細胞レベルの左右非対称性 (細胞キラリティ) によって生み出されることが明らかになってきた. これまで, 細胞キラリティを生み出す分子機構については研究が進展してきた一方で, 細胞キラリティがどのように協調することで多細胞レベルの左右非対称性を作り出すのかについては, ほとんど理解がされていない.

本演題では, 単細胞レベルでの左右非対称な振る舞いが, 多細胞レベルでの左右非対称な回転運動を生み出す機構を報告する. 我々は, ヒト腸管上皮由来の Caco-2 細胞を単細胞で培養したとき, 核や細胞質が時計回りに 50°/h の速度で回転すること -- すなわち Caco-2 細胞が明瞭な細胞キラリティを示すことを発見した. この単細胞の回転は, アクトミオシン細胞骨格依存的であることも明らかにした. 興味深いことに, Caco-2 細胞が分裂して多細胞のコロニーを形成すると, そのコロニーも必ず時計回りに回転する. この集団回転は, 細胞キラリティが多細胞レベルで統合されることで生まれると考えられる. 我々は, 時計回りの細胞集団回転には, アクトミオシンおよび微小管の両方が必須であることを突き止めた. さらに, 集団回転時に, それぞれの細胞は葉状仮足と焦点接着斑を左右非対称に形成すること, この左右非対称な仮足形成および焦点接着斑形成には細胞骨格関連因子である CAMSAP3/ACF7 が必須であることを明らかにした. 本成果は, 多細胞集団が細胞キラリティに基づいた左右非対称な形態形成運動を生み出すメカニズムの基礎的理解をもたらす.

“Kick-me-out” シグナル、FGF21 の発現誘導を介したがん抑制型細胞競合の分子機構の解明

* 小川基行 (東京大学大学院薬学系研究科細胞情報学教室), 名黒功 (東京大学大学院薬学系研究科細胞情報学教室), 一條秀憲 (東京大学大学院薬学系研究科細胞情報学教室)

キーワード: 細胞競合, 細胞死, FGF21, NOS3, S- ニトロシル化

近年, 生体内に生じた異常細胞やがん変異細胞が細胞競合により組織から選択的に排除されることが示されている. 例えばショウジョウバエにおいて, 細胞極性を制御するがん抑制因子 Scribble を欠損した細胞は過剰に増殖して腫瘍を形成するが, 正常細胞に囲まれると細胞競合により排除される. こうしたがん抑制型細胞競合は, 主にショウジョウバエを用いた遺伝学的解析により分子機構が解明されてきたが, 哺乳類ではほとんど未解明である. 最近我々は, 哺乳類細胞を用いて線維芽細胞増殖因子 FGF21 がこの細胞競合を誘導することを発見した. FGF21 は Scribble 欠損細胞から分泌され, 正常細胞の FGFR1 を介して細胞競合を誘導した. 正常細胞群と Scribble 欠損細胞群を対峙させ接触させると, Scribble 欠損細胞群が FGF21 依存的に正常細胞群に物理的に圧迫され排除された. FGF21 過剰発現細胞が正常細胞を誘引したことから, FGF21 が正常細胞を誘引することで Scribble 欠損細胞が圧迫され排除される可能性が示された. また, 一酸化窒素 (NO) 産生酵素 NOS3 が産生する NO が ASK1 を S- ニトロシル (SNO) 化修飾により活性化して FGF21 を発現誘導することを見出した. Scribble 欠損により NOS3 が細胞膜から細胞質へと局在変化することで, ASK1 と結合して選択的に SNO 化修飾していた. AKT1 によるリン酸化が NOS3 の局在変化に必要であった. 現在, マウスレベルの細胞競合解析系を新たに構築し, FGF21 による細胞競合が生体内でがん抑制機構として働くか検証している. 以上から, 細胞競合で排除される細胞が提示する “kick-me-out” シグナル, FGF21 を発見するとともに, 血管拡張や細胞死誘導等に働く NO の新たな機能として, FGF21 を介した細胞間の競合的コミュニケーションを見出した.

UFM1 システムは CYB5R3 の Ufmylation を介して ER-phagy を制御する

* 石村 亮輔 (順天堂大学医学部生理学第二講座), 能代 大輔 (北海道大学遺伝子病制御研究所生命分子機構分野), 植村 武文 (福島県立医科大学医学部解剖組織学講座), 和栗 聡 (福島県立医科大学医学部解剖組織学講座), 野田 展生 (北海道大学遺伝子病制御研究所生命分子機構分野), 小松 雅明 (順天堂大学医学部生理学第二講座)

キーワード: UFM1 system, ER-phagy, ユビキチン様修飾システム

ユビキチン様タンパク質 (UBL) によるタンパク質修飾は、限られたゲノム情報を増幅し、オートファジーや抗ウイルス経路を含む多様な細胞内プロセスを制御する。Ubiquitin-fold modifier 1 (UFM1) は、ユビキチン化に類似した反応を介して細胞内タンパク質と共有結合する (UFM1 化/Ufmylation)。Ufmylation は、小胞体関連タンパク質分解、小胞体でのリボソーム関連品質管理 (ER-RQC)、小胞体のオートファジー (ER-phagy) に関与することが報告されているが、UFM1 システムが異なる小胞体関連機能をどのように制御しているかは依然として不明である。今回、我々は UFM1 の新規基質として、小胞体膜に局在する NADH-シトクロム b5 還元酵素 3 (CYB5R3) を同定した。CYB5R3 の UFM1 化は、小胞体上の UFM1 E3 リガーゼコンポーネントである UFL1 および UFBP1 に依存しており、UFM1 化により CYB5R3 の構造変換が起こることが示唆された。UFM1 化 CYB5R3 は小胞体ごとリソソームにおいて分解されると考えられるが、この分解にはオートファジー関連タンパク質 Atg7 と選択的オートファジー受容体タンパク質 CDK5RAP3 が必要であった。CYB5R3 や UFM1 システムに関わる遺伝子の変異は小頭症を伴う小児てんかん性脳症を引き起こすことが知られているが、Ufmylation 欠損 *Cyb5r3* ノックインマウスも小頭症を呈した。これらの結果は、UFM1 化を介した ER-phagy 障害が小児てんかん性脳症の原因となることを示唆する。また、UFM1 E3 リガーゼ複合体の AlphaFold2 による解析も進めているので、UFM1 E3 による ER-RQC と ER-phagy の制御機構も併せて紹介したい。

繊毛病関連タンパク質 HYLS1 による中心小体微小管の高次構造化機構

* 竹田 穰 (東京大学大学院薬学系研究科), 知念 拓実 (東京大学大学院薬学系研究科), 本田 俊之介 (東京大学大学院薬学系研究科), 高鳥 翔 (東京大学大学院薬学系研究科), 富田 泰輔 (東京大学大学院薬学系研究科), 畠 星治 (東京大学大学院薬学系研究科), 北川 大樹 (東京大学大学院薬学系研究科)

キーワード: 中心小体, 微小管, 繊毛, 鞭毛, 中心体

中心小体は高度に保存された細胞内構造体であり、繊毛、鞭毛、中心体の形成に必須である。そのため、中心小体構造の異常は繊毛病、小頭症、がん、不妊症などの原因になる。中心小体の核構造は 3 連微小管が 9 回対称に配置された複雑な形状をしている。しかし、このように重要で複雑な中心小体微小管の高次構造が形成されるメカニズムについてはよくわかっていなかった。そこで、本研究は中心小体特有の微小管高次構造を規定する分子基盤の解明を目指した。

はじめに、中心小体微小管の高次構造化に寄与する遺伝子を同定するため、DepMap を用いた網羅的探索を行った。DepMap は千以上の異なるヒト細胞株での CRISPR スクリーニング結果を統合したデータベースである。この多次元情報の比較解析により、中心小体構造を規定することが予想される候補因子を複数得た。候補因子のうち、繊毛病関連タンパク質の HYLS1 に着目し、ヒト細胞で発現を抑制したところ、電子顕微鏡像において中心小体微小管構造の著しい破綻が確認された。さらに驚くべきことに、HYLS1 を過剰に発現すると微小管が円筒型に配置された高次構造体が細胞内に形成された。この構造体は中心小体に類似した形状や安定性を有しており、HYLS1 が微小管を高次構造化させるのに十分な機能をもつことが示唆された。続いて、HYLS1 による微小管高次構造化の意義に迫るため、病原変異体を用いた解析を行った。HYLS1 の D211G 変異は重篤な繊毛病の一種である Hydrolethalus 症候群の患者で頻繁に見られる。D211G 変異体の機能解析の結果、この変異体は野生型とは異なり、微小管高次構造化能や中心小体構造安定化能をもたなかった。

以上の結果より、HYLS1 による微小管の高次構造化が中心小体特異的な微小管構造を規定しており、その破綻が繊毛病の発症につながることを示唆された。

Cholesterol-rich domain formation mediated by ZO proteins is essential for tight junction formation

* Kenta Shigetomi (Department of Biology • Faculty of Science • Kyushu University), Yumiko Ono (Department of Biology • Faculty of Science • Kyushu University), Kenji Matsuzawa (Department of Biology • Faculty of Science • Kyushu University), Junichi Ikenouchi (Department of Biology • Faculty of Science • Kyushu University)

キーワード: Tight junction, Cholesterol, Cell adhesion, Cytoskeleton

Epithelial cells adhere to each other through several distinct cell adhesion structures that together are called Apical Junctional Complexes (AJCs). Among them, Tight Junctions (TJs) are the most apical cell adhesion structures in epithelial cells and are responsible for the barrier function of the epithelial cell sheet. We had reported that TJs require the presence of a lipid domain enriched in cholesterol and sphingomyelin containing very long-chain fatty acids [K. Shigetomi, Y. Ono, T. Inai, J. Ikenouchi, J. Cell Biol. 217, 2373-2381 (2018)]. However, it remained unclear whether the accumulation of these lipids was actively involved in TJ formation or whether lipid accumulation was secondary to the accumulation of the TJ adhesion molecule, claudins.

In this study, we established an epithelial cell line (claudin-null cells) that lacks TJs by knocking out all expressed claudin isoforms to analyze how cholesterol accumulation is affected by the loss of TJs. First, we confirmed that TJs were structurally and functionally absent in claudin-null cells. Next, we examined changes in the cholesterol distribution in claudin-null cells. Surprisingly, we found that cholesterol is enriched at AJCs despite the lack of TJs in claudin-null cells. Polymerization of claudins at TJs is thought to require binding to zonula occludens (ZO) proteins but a claudin mutant that cannot bind to ZO proteins still formed TJ strands. ZO proteins were however necessary for cholesterol accumulation at the AJCs through their effect on the junctional actomyosin cytoskeleton. We propose that ZO proteins not only function as scaffolds for claudins but also promote TJ formation by informing the establishment of cholesterol-rich membrane domains at the AJCs.

クライオ電子線トモグラフィーにより明らかとなった核膜孔複合体の構造頑健性の細胞分化における重要性

* 谷口怜哉 (マックスプランク生物物理学研究所), Clarisse Orniacki (ジャックモノー研究所), Beata Turonova (マックスプランク生物物理学研究所), Valerie Doye (ジャックモノー研究所), Martin Beck (マックスプランク生物物理学研究所)

キーワード: 核膜孔, 核膜, クライオ電子線トモグラフィー, マウス胚性幹細胞, 分化

核膜孔複合体 (NPC) は、核の内外での物質輸送を制御する環状のタンパク質複合体である。近年、NPC を構成するタンパク質、ヌクレオポリンの一部が、正常な細胞分化に必須であることが明らかとなってきた。これにより NPC の細胞分化における重要性が示唆された一方で、核の形状や核膜の柔軟性など、様々な要素の変化が起こる細胞分化のプロセスにおいて、NPC がどのように変化し、どう細胞分化に対して関与するのか、の詳細は不明であった。そこで我々は、マウス胚性幹細胞と、その分化誘導により得られた神経前駆細胞を利用し、これらの細胞が持つ NPC の三次元構造をクライオ電子線トモグラフィーにより解析することで、NPC の構造と分化の関係性について示唆を得ることを試みた。野生型細胞株を用いての解析より、分化誘導後の NPC では、核膜の状態の変化に応じて NPC 開口部の直径の拡大が起こることが明らかとなった。加えて同様の実験を、細胞分化に必須なヌクレオポリンである Nup133 の欠失細胞株についても行った結果、この細胞株が通常の 8 回対称の構造を持つ NPC に加えて、異なる対称性を持つ NPC を持つことが明らかとなった。より詳細に個々の NPC の構造を精査した結果、これらの NPC の多くが不完全な環状構造を持ち、その一部は構造頑健性の低下と核膜の伸展の影響を受けて過度に拡張した異常な構造を取っていることが確認された。これらの異常な形状の NPC の割合がマウス胚性幹細胞が神経前駆細胞へと分化する過程で増加することから、NPC の構造頑健性の低下が直接、NPC の過度の拡張とそれに伴う核膜のダメージをもたらすことで、正常な細胞分化が妨げられていると示唆された。以上の結果より、NPC の構造頑健性が、正常な細胞分化の進行において重要な役割を担うことが明らかとなった。

18:40-18:55 (2023-06-28 17:10 - 19:40 | A会場)

Y - D1 - A001 - 007

STING 自然免疫シグナルの終結機構：リソソームによる細胞質内包化・分解現象の発見

* 朽津 芳彦 (福島県立医科大学医学部), 向井 康治朗 (東北大学大学院生命科学研究科), 和栗 聡 (福島県立医科大学医学部), 田口友彦 (東北大学大学院生命科学研究科)

キーワード：リソソーム, オートファジー, 自然免疫

自然免疫応答は異物に対する先天的な応答機構として知られ、感染初期の生体防御に重要な役割を果たしている。STING シグナル経路は、DNA ウイルスの感染により活性化し、抗ウイルス応答・I型インターフェロン応答を誘導する。

これまでに、我々は STING シグナル経路の活性化メカニズムについて解析を進め、小胞体局在性膜タンパク質 STING が、ゴルジ体へ移行してパルミトイル脂質修飾を受けることが STING 活性化に必要であることを明らかにしてきた (Mukai et al., Nat Commun 2016, 2021)。一方で、STING シグナルの終結機構については不明であった。そこで本研究では STING の post-Golgi 輸送経路に着目し解析を行なった。超解像度ライブセルイメージングにより、STING の動態を観察したところ、STING がリソソームに接近したのち、リソソームに直接内包化され、分解されていく様子を多数捉えた。さらに、光電子顕微鏡法 /CLEM 法により、STING 陽性の被覆小胞の集合体が、リソソームに内包化されていることが示唆された。さらに、この現象を制御する分子機構として、(i) ESCRT (endosomal sorting complexes required for transport) 複合体の機能が必要であること、(ii) post-Golgi において STING のリジン残基 288 が K63 ユビキチン化修飾をうけること、(iii) ESCRT 複合体の構成因子の一つ Tsg101 のユビキチン認識ドメインが STING の分解およびシグナル終結に必要であることを、明らかにした。以上、本研究では、STING のリソソームによる直接的な内包化・分解現象を同定し、その制御分子メカニズムを明らかにした (Kuchitsu et al., Nat Cell Biol. 2023)。

18:55-19:10 (2023-06-28 17:10 - 19:40 | A会場)

Y - D1 - A001 - 008

生殖細胞における中心体数の分子制御

* 澁谷大輝 (理化学研究所生命機能科学研究センター | University of Gothenburg, Department of Chemistry and Molecular Biology)

キーワード：減数分裂, 中心体, 鞭毛, 精子細胞, 生殖細胞

中心体は主要な微小管重合中心として機能する細胞小器官であり、二つのバレル状の中心小体と呼ばれる構造体と、それを取り囲む Pericentriolar material と呼ばれるタンパク質群からなる。体細胞分裂期において、中心体は DNA 複製とカップルして、細胞周期につき一度だけ正確に複製されることで、その数を一定に保っている。また、細胞分裂期にはスピンドル形成を介して、染色体分配を担保する。

これまで中心体のバイオロジーは培養細胞等の体細胞分裂期の細胞を用いて発展してきた。一方で、配偶子形成に特化したもう一つの細胞分裂形態である減数分裂における中心体の分子制御の多くは謎に包まれている。特に、オスの減数分裂では、2回の連続した細胞分裂を担保するために、2回の連続した中心体複製が観察される。さらに、減数分裂を終えると、精子細胞はそれぞれ一つの中心体を引き継ぎ、そこから一本の鞭毛が形成される。その後、ヒトを含む多くの動物では、精子の中心体は受精を介して受精卵へと引き継がれていく。これら、雄性生殖細胞に特化した中心体制御の分子基盤はほとんど未解明である。

我々は、マウスの精巣から中心体を精製し、雄性減数分裂期特異的に発現する中心体タンパク質のスクリーニングを行なった。その結果、既知の中心小体因子 CENTRIN と相互作用する精巣特異的なタンパク質 MEICEN (Meiotic CENTRIN interactor) を同定した。MEICEN のノックアウトマウスでは、減数分裂の終わりに、mother と daughter からなる中心小体が切り離される disengagement 過程が起こり、その結果、中心体複製因子である PLK4 の中心小体への異常集積と、それに伴う中心体の過剰複製が観察された。中心体を過剰にもつノックアウト精子細胞からは、2本以上の鞭毛が同時形成されるという特異な異常が観察された。

STREAMING-tag による転写活性と転写制御関連因子の時空間的な関連性の解明

* 大石 裕晃 (九州大学 生体防御医学研究所 遺伝子発現動態学分野), 島田 聖瑠 (広島大学大学院 統合生命科学研究科), 内野 哲志 (東京工業大学 生命理工学院), Jieru Li (スローンケタリング記念がんセンター 構造生物学プログラム), 佐藤 優子 (東京工業大学 生命理工学院 | 東京工業大学 科学技術創成研究院), 新谷 学文 (広島大学大学院 統合生命科学研究科), 大和田 一志 (九州大学 生体防御医学研究所 遺伝子発現動態学分野), 大川 恭行 (九州大学 生体防御医学研究所 トランスクリプトミクス分野), Pertsinidis Alexandros (スローンケタリング記念がんセンター 構造生物学プログラム), 山本 卓 (広島大学大学院 統合生命科学研究科), 木村 宏 (東京工業大学 生命理工学院 | 東京工業大学 科学技術創成研究院), 落合 博 (九州大学 生体防御医学研究所 遺伝子発現動態学分野)

キーワード: 転写動態, 転写不均一性, 生細胞, ES 細胞, STREAMING-tag

遺伝子の転写は、細胞内のタンパク質合成のための情報を RNA にコピーする過程であり、発生や組織機能など様々な生命現象において極めて重要な役割を担う。一方で転写は、RNA ポリメラーゼ 2 (RNAPII) によって連続的に転写される状態とほとんど転写されない状態を確率的に遷移する動的なプロセスであることが知られている。これまで転写活性状態と転写調節因子 (転写因子、RNAPII、転写補因子など) のクラスター (RF クラスター) 形成が関係していることが示唆されていたが、不活性化時における RF クラスターの形成動態は不明であった。我々は、この課題を解決するために、生細胞で遺伝子座と新生 RNA を同時に可視化する Spliced TetO REPeAt, MS2 repeat, and INTEIN sandwiched reporter Gene tag (STREAMING-tag) を開発した。この STREAMING-tag を内在遺伝子にノックインし、TetR-GFP と MCP-RFP を発現させることで、遺伝子座と新生 RNA を可視化できる。顕著な転写動態を示す *Nanog* 遺伝子の TSS 直下に STREAMING-tag をノックインしたマウス胚性幹細胞株を樹立し、生細胞イメージングによって *Nanog* の転写活性および不活性化時における遺伝子座と RF クラスター間の距離を高解像度に決定した。RNAPII と転写補因子 BRD4 のクラスターは、転写状態では遺伝子座から 250 nm 付近に局在していたのに対して、不活性化状態では 500 nm 付近に局在した。一方で、転写補因子メディエータークラスターは転写活性状態に関係なく遺伝子座に近接していた。このように STREAMING-tag システムは単一遺伝子レベルでの核内微小環境における時空間的な転写制御機構を解析するための新たな手法を提供する。

ショウジョウバエ卵巣体細胞における piRNA 生合成の場 Yb body への Piwi 局在化機構とその制御

* 平形 樹生 (東京大学), 藤田 あおい (東京大学), 塩見 美喜子 (東京大学)

キーワード: piRNA, Piwi, Yb body, Shu, 液 - 液相分離

動物の生殖組織に発現する小分子 RNA である piRNA は、PIWI タンパク質と複合体を形成してトランスポゾンを抑制する。piRNA 経路の異常はゲノムの損傷をもたらし、不妊の原因となる。ショウジョウバエの卵巣体細胞では、piRNA の多くは Yb body と呼ばれる細胞質顆粒で産生される。長鎖の piRNA 前駆体は、Yb body 内で未同定の因子により切断されて piRNA 中間体となり、Piwi および RNA ヘリカーゼ Armi と複合体を形成して Yb body から離れ、ミトコンドリア外膜表面に移行して成熟化を受ける。Piwi の Yb body への局在化とそこからの離脱を適切に制御することは多段階の piRNA 生合成の基盤を成すが、詳細な機構は不明である。

我々はこれまでに、Yb body の主要構成タンパク質である Yb, Armi, Vret, SoYb の階層性を解析し、Yb が液 - 液相分離によって顆粒を形成し、Armi が Vret と SoYb を Yb body にリクルートすることを明らかにした。今回我々は、Piwi と、Yb body に一過的に局在する piRNA 生合成因子 Shu に着目し、局在と相互作用を解析した。その結果、Piwi は Shu 依存的に細胞質で Armi と結合して Yb body に入り、SoYb と Vret によってそこに保持されることが示唆された。また、piRNA 生合成経路が Shu タンパク質量を負に制御するフィードバック機構の存在も判明した。通常 Shu は Yb body に蓄積しないが、Shu 同士の結合を人為的に誘導したところ、Yb body への蓄積が見られた。このとき、OSC では中間体複合体の Yb body からの離脱が阻害された。Yb body へ Piwi をリクルートする Shu が、相互に反発して Yb body から解離することで、piRNA 生合成の次のステップへの進行が可能になることが示唆された。

バイオリジカルクラスターによる超分子複合体形成

2023/6/28 17:10 ~ 19:40 | B会場

座長：深川竜郎（大阪大学生命機能研究科）、北川大樹（東京大学大学院薬学系研究科）

細胞を構成する分子複合体の構造や機能の解明は、これまで試験管内で作った複合体を解析することが中心であった。しかし実際に分子複合体が細胞内で機能するには、複合体どうしが動的に相互作用し、細胞内環境の制御を受けながら段階的に高次のクラスターを形成し、超分子複合体として振る舞うことが少なくない。本シンポジウムでは、細胞内で形成される機能的な分子の集合を、特に「バイオリジカルクラスター」と定義し、超分子複合体が細胞内で実際にどのように機能するのかを細胞生物学と物理学の両面から議論する。

S - D1 - B002 - 001

始めに /Introduction

17:10-17:15

S - D1 - B002 - 002

CENP-C のクラスター化による動原体の機能構築機構

* 深川竜郎（大阪大学大学院生命機能研究科）

17:15-17:38

S - D1 - B002 - 003

高次染色体構造の形成に機能する SMC 複合体の集合と動態

* 村山 泰斗（国立遺伝学研究所）

17:38-18:01

S - D1 - B002 - 004

分子クラスタリングが促進する M 期染色体の構築機構

高橋元子（がん研究会がん研究所）、* 広田 亨（がん研究会がん研究所）

18:01-18:24

S - D1 - B002 - 005

バイオリジカルクラスターが駆動する分裂期中心体と紡錘体の形成機構

* 北川 大樹（東京大学大学院薬学系研究科）、深作明日香（東京大学大学院薬学系研究科）、知念拓実（東京大学大学院薬学系研究科）

18:24-18:47

S - D1 - B002 - 006

高分子の長さ依存的膜濡れが誘起する人工細胞中での相分離

* 柳澤 実穂（東京大学大学院総合文化研究科）

18:47-19:10

S - D1 - B002 - 007

分裂期染色体形成の数理モデル

* 境 祐二（京都大学医生物学研究所）、日比野 佳代（遺伝学研究所）、立川 正志（横浜市立大学）、前島 一博（遺伝学研究所）

19:10-19:33

S - D1 - B002 - 008

終わりに /Closing

19:33-19:40

17:15-17:38 (2023-06-28 17:10 - 19:40 | B会場)

S - D1 - B002 - 002

CENP-C のクラスター化による動原体の機能構築機構

* 深川竜郎 (大阪大学大学院生命機能研究科)

キーワード: 動原体, セントロメア, 細胞分裂, 染色体

正確な染色体分配はゲノム上のセントロメア領域に形成される動原体によって保障されている。両極から伸びてくる紡錘体微小管が動原体を捉えることによって、染色体は娘細胞に分配される。染色体分配機構の理解には、「動原体がどう構築されて機能するのか?」という問いに答えることが必須である。動原体を構成するタンパク質の多くは同定され、試験管内での再構成も可能になりつつある。また、その構造情報も蓄積してきている。しかしながら、細胞内で動原体タンパク質が、どのように集まり、機能するのかについては、不明な点も多い。本研究では、動原体タンパク質のうち、CENP-C に注目し、CENP-C の機能を通じた動原体構築に関して発表を行う。CENP-C は、動原体内で多くのタンパク質と結合するが、その役割は未だ未解明であった。本発表では、CENP-C の最も本質的な機能について議論したい。

17:38-18:01 (2023-06-28 17:10 - 19:40 | B会場)

S - D1 - B002 - 003

高次染色体構造の形成に機能する SMC 複合体の集合と動態

* 村山 泰斗 (国立遺伝学研究所)

キーワード:

総長数 - 数十メートルに達するゲノム DNA は、わずかマイクロメートルスケールの細胞核に折り畳まれた状態で存在する。ゲノム DNA の折り畳みは細胞周期を通じてダイナミックに制御され、細胞分裂や遺伝子発現を含む多様な染色体活動と密接に関わっている。このような3次元ゲノム構造の形成に中心的な役割を果たすのがリング状構造をとる SMC 複合体である。SMC 複合体は ATP を駆動力とする分子装置であり、リングの中に DNA を通し束ねることでメガベーススケールの高次染色体構造を形成すると考えられている。しかし、DNA 結合のモデルは諸説あり、詳細な分子作用機構は明らかではない。

我々は酵母の SMC 複合体の一つであるコヒーシンを精製し、その ATP 依存的な DNA 結合活性を試験管内で再構成することで機能解析を行ってきた。本研究では、高速 AFM を用いてコヒーシスが DNA に結合する状態を直接可視化した。これにより、コヒーシスが DNA に沿って一次元拡散する様子や、DNA 上でのコヒーシン分子の構造変化がリアルタイムで捉えられた。これらに加え、複数の分子が DNA 上で集合するなど多様な動態が観察された。これらの観察結果をもとに、コヒーシスが DNA に結合する分子機構について議論する。

18:01-18:24 (2023-06-28 17:10 - 19:40 | B会場)

S - D1 - B002 - 004

分子クラスタリングが促進する M 期染色体の構築機構

高橋元子 (がん研究会がん研究所), * 広田 亨 (がん研究会がん研究所)

キーワード: 染色体構築, 細胞分裂, コンデンシン, クロモキネシン, 超分子複合体

細胞分裂に先立ってクロマチン線維がいかにして棍棒状の染色体を構築するのかが、細胞生物学における重要な未解明課題のひとつである。コンデンシンは、種を超えて高度に保存されるタンパク質複合体であり、クロマチン線維の構造を変換し、M 期染色体の形成に必須の役割をこなすことが知られている。単一分子等の解析により、コンデンシンには DNA を巻き上げる能力 (ループの押し出し活性) を持つことが示されているが、分子シミュレーションは、その活性のみでは十分に染色体の形成を説明できないとことを指摘している。わたしたちは、コンデンシンとクロマチンに結合するキネシンの KIF4A との相互作用を見出し、その役割に注目してきました (高橋ら, Genes Dev 2016)。続く研究から、この相互作用の阻害はセントロメア構造の脆弱化と、それによる動原体機能の低下と顕著な染色体動態異常を誘導することから、この相互作用が不可欠な役割を担っていることが示唆された。興味深いことに、KIF4A の coiled-coil ドメインには自己集合活性を有すること、そしてその集合はコンデンシンを呼び込んで超分子複合体のクラスターを形成することを見出した。本発表では、超解像イメージング解析及びゲノム構造解析で得られている最新のデータに基づいて、分子クラスタリングによって駆動される M 期染色体構築のメカニズムについて議論したい。

バイオリジカルクラスターが駆動する分裂期中心体と紡錘体の形成機構

* 北川 大樹 (東京大学大学院薬学系研究科), 深作明日香 (東京大学大学院薬学系研究科), 知念拓実 (東京大学大学院薬学系研究科)

キーワード: バイオリジカルクラスター, 細胞分裂, 中心体, 紡錘体

中心体は微小管形成中心として機能し、細胞分裂をはじめとする多様な細胞機能に重要である。中心体は、中核構造体である中心小体とその周囲を取り囲む無定形のマトリックス (Pericentriolar Material (PCM)) により構成されている。中心体は可塑性に富む非膜系オルガネラであり、分裂期に入るとPCMを増加させることでサイズを数倍に拡大し、より強固な分子間相互作用によって、微小管から作用される張力に耐えうる構造体として機能する。また、分裂期紡錘体を形成するために、微小管形成に重要な超分子複合体をより多く集約させる。このサイズの拡大と微小管の集約が、分裂期紡錘体形成における中心体の機能に重要であるが、その制御機構の詳細は不明である。

当研究室では、ヒト細胞の分裂期において、PCMの主要構成因子であるPCNTが高次にクラスター化し、中心小体に局在するCep57との結合を介して機能的なPCM構造を形成することを明らかにした。また、紡錘体形成の重要因子であるNuMAを含む超分子複合体が、微小管重合核として機能し、細胞質から中心体に持続的に輸送されることで、紡錘体が効率的に形成されることを見出した。間期において核内に局在するNuMAは、核膜崩壊後に細胞質中に放出され、高次クラスター化する。このNuMA超分子複合体は微小管重合核として機能し、微小管とダイニン依存的に中心体へと運ばれる。この様に、分裂期中心体の機能は、PCM構成因子によるクラスター化による拡大と、クラスター化により形成された微小管重合核の集約により達成され、紡錘体形成に寄与するものと考えられる。本講演では、複雑かつ精密な分裂期中心体と紡錘体の形成を例に、細胞内の分子夾雑下における構成因子のクラスター化とその機能発現機構に関して議論したい。

高分子の長さ依存的膜濡れが誘起する人工細胞中での相分離

* 柳澤 実穂 (東京大学大学院総合文化研究科)

キーワード: 相分離, 濡れ, 人工細胞, 液滴

胞質中に存在する多様かつ大量の生体分子は、生体分子同士あるいは生体分子と生体膜との相互作用を介して、生命活動に関わっている。我々は、こうした複雑な相互作用を物理化学的立場から理解するために、リン脂質膜で覆われた細胞サイズの油中液滴やリン脂質膜小胞 (リポソーム) を人工細胞として用い、その内部で (生体) 高分子が示す振る舞いを解析してきた。その結果、高濃度の (生体) 高分子溶液を半径が約20マイクロメートルサイズ以下の人工細胞へ閉じ込めると、分子の振る舞いが *in vitro* 系として一般に用いられるミリリットル量の溶液中から変化することを見出した (細胞サイズ効果と呼ぶ) [1, 2]。例えば、タンパク質発現加速、相分離誘起、生体高分子の相転移およびナノ構造転移の変化などが生じる。細胞サイズ効果は、近年注目される相分離に対しても見られ、バルク系では均一液体相である高分子混合溶液を細胞サイズの液滴へ閉じ込めると、相分離が生じる。本講演では、この細胞サイズ閉じ込めが誘起する相分離現象について、高分子の長さ依存的な膜濡れから説明する [3-5]。さらに、細胞内相分離の制御における膜濡れの寄与についても議論したい。

1.M. Yanagisawa, et al., *Langmuir*, 38, 11811 (2022).

2.M. Yanagisawa, *Biophys. Rev.*, 14, 1093 (2022).

3.M. Yanagisawa, *PNAS*, 111

分裂期染色体形成の数理モデル

* 境 祐二 (京都大学医生物学研究所), 日比野 佳代 (遺伝学研究所), 立川 正志 (横浜市立大学), 前島 一博 (遺伝学研究所)

キーワード: 染色体, クロマチン, コンデンシン, 物理モデリング, 1分子計測

細胞分裂に際し、染色体は大規模な構造変化を起こす。間期に細胞核内に広がっていたクロマチンは、分裂期になると互いに凝縮し棒状の染色体を形成する。この染色体形成にはコンデンシンやトポイソメラーゼなどの関連タンパク質による制御を受けている。

コンデンシンの局所的な活性がどのように大規模な染色体形成を制御しているのだろうか。クロマチンとコンデンシンをバネ・ビーズで数理モデル化し、粗視化シミュレーションを用いて、染色体形成のダイナミクスを解析した。コンデンシンが、クロマチンにループを形成し、ループの根本にあるコンデンシンが互いに相互作用することで、コンデンシンの軸中心が作られ、その軸中心に沿ってクロマチンループが並ぶことで棒状の染色体が形成されうることを示した。

コンデンシンが軸中心を形成し、クロマチンループを束ねることで、染色体内部のクロマチン動態はどのように影響を受けるのであろうか。分裂期における大規模な染色体の構造変化が局所的なヌクレオソーム動態に与える影響を調べるために、物理モデルによる動態シミュレーションと細胞内1分子イメージング計測を組み合わせた研究を行なった。間期と分裂期におけるヌクレオソーム動態を計測したところ、分裂期においてヌクレオソーム動態が低下することがわかった。コンデンシン軸中心のヌクレオソーム動態は染色体表層に比べ顕著に低い。また、分裂期における染色体内のコンデンシンを除去したところ、ヌクレオソーム動態は間期と同程度まで上昇した。次に、数理モデルを用いてクロマチン動態を解析したところ、実験で見られた顕著なヌクレオソーム動態変化は、コンデンシンによるクロマチンループ形成モデルで定量的に説明できることがわかった。これらの結果は、染色体の構造形成と内部のヌクレオソーム動態が共にコンデンシンによる制御を受け、互いに相関していることを示唆している。

オルガネラ膜物性から探るオルガネラの機能

2023/6/28 17:10 ~ 19:40 | C会場

座長：田村康（山形大学）、高橋康史（名古屋大学）

【共催】AMED-CREST [プロテオスタシス]

オルガネラは脂質二重膜によって区画化された構造であるため、膜自身を持つ物性や脂質分子の動態の解析が、真のオルガネラの理解に不可欠である。しかし、これまでのオルガネラ研究は、タンパク質の機能解析が中心であり、膜そのものの性質に注目した研究はほとんど行われていない。本シンポジウムでは、オルガネラの膜を持つ物性を直接測定する技術や、オルガネラ膜物性、脂質動態といった新しい視点でオルガネラの機能、運命を探る最新研究について紹介する。

S - D1 - C002 - 001

始めに /Introduction

17:10-17:15

S - D1 - C002 - 002

ガラスナノピペットを用いたオルガネラのその場回収技術の開発

* 高橋 康史 (名古屋大学工学研究科 | 金沢大学ナノ生命科学研究所)

17:15-17:44

S - D1 - C002 - 003

環境応答性色素によるミトコンドリア膜動態追跡

* 多喜 正泰 (名古屋大学)

17:44-18:13

S - D1 - C002 - 004

ゴルジ体の新たな機能 GOMED を制御する脂質動態

* 清水重臣 (東京医科歯科大学 難治疾患研究所)

18:13-18:42

S - D1 - C002 - 005

脂質輸送異常に起因するゴルジ体ストレスによって細胞死が引き起こされる分子機構

* 吉田秀郎 (兵庫県立大学大学院理学研究科)

18:42-19:11

S - D1 - C002 - 006

均一な核ラミナ形成に関わる新規因子 PIGB

* 後藤 聡 (立教大学), 山本 (日野) 美紀 (立教大学)

19:11-19:40

17:15-17:44 (2023-06-28 17:10 - 19:40 | C会場)

S - D1 - C002 - 002

ガラスナノピペットを用いたオルガネラのその場回収技術の開発

* 高橋 康史 (名古屋大学工学研究科 | 金沢大学ナノ生命科学研究所)

キーワード: 超解像度イメージング, オルガネラ回収

ガラスピペットを用いた細胞回収は、単一細胞の回収のための非常に簡便かつ有効なツールである。このガラスナノピペットを微細化し、単一細胞そのものではなく、細胞内のオルガネラをその場で回収し、単一のオルガネラの分析に資する技術を開発する。個々のオルガネラを識別するために、共焦点顕微鏡やホログラフィック顕微鏡を利用する。また、ガラスナノピペットの細胞表面へのアプローチを自動化するため、走査型イオンコンダクタンス顕微鏡で活用されるイオン電流をフィードバック信号として活用して、ナノピペットの細胞の表面まで近接させる。また、オルガネラの識別に関して、Yolov8 を利用することで、自動で位置を識別し、ナノピペットをその位置に配置するアルゴリズムの開発を行っており、当日はオルガネラの自動回収の進捗状況についても報告する予定である。

17:44-18:13 (2023-06-28 17:10 - 19:40 | C会場)

S - D1 - C002 - 003

環境応答性色素によるミトコンドリア膜動態追跡

* 多喜 正泰 (名古屋大学)

キーワード: ミトコンドリア膜動態, 蛍光プローブ, 超解像度蛍光イメージング, 蛍光寿命イメージング, 環境応答性

ミトコンドリアは、膜形態をダイナミックに変化させながらアポトーシスの制御やカルシウム貯蔵など、多岐にわたる細胞機能を精密にコントロールしている。高い時空間分解能で細胞機能を可視化できる蛍光イメージング法は、細胞機能解析において有用な技術である。我々は、独自の分子設計指針に基づき、ミトコンドリア膜形態や脂質特性の変化を長時間に渡って観察可能な環境応答性蛍光色素を創出してきた。

MitoPB Yellow は「超耐光性」とも形容できる圧倒的な耐光性を有するミトコンドリア内膜特異的な蛍光標識剤であり、溶媒の極性に依って蛍光特性が変化する環境応答性を有する。これにより、細胞質やミトコンドリアマトリックスなどの高極性環境に存在する色素からは蛍光シグナルが観測されないが、膜内に取り込まれて疎水的环境にある色素は強い蛍光を発するため、膜構造のみを高い S/N 比で観察することが可能となった。実際、超解像 STED 顕微鏡では 45 nm の半値幅でクリステ構造を可視化することができ、超耐光性を活かすことにより、ミトコンドリア動態の超解像タイムラプスイメージングも達成した。

続いて、第 2 世代の内膜標識剤として、MitoPB Red を開発した。MitoPB Red は赤色領域に蛍光を有することに加え、MitoPB Yellow に比べさらに大きな環境応答性を示すことが特徴である。これにより、より長波長の 775 nm による誘導放出が可能となり、明瞭なクリステ構造を捉えることができた。さらに、MitoPB Red は、脂質組成の違いによって誘起される膜極性環境の違いを感受して、異なる蛍光寿命を与えることを見出した。蛍光寿命顕微鏡 (FLIM) でミトコンドリアを観察すると、単一のミトコンドリアにおける膜組成の不均一性を捉えることに成功した。

18:13-18:42 (2023-06-28 17:10 - 19:40 | C会場)

S - D1 - C002 - 004

ゴルジ体の新たな機能 GOMED を制御する脂質動態

* 清水重臣 (東京医科歯科大学 難治疾患研究所)

キーワード: GOMED, ゴルジ体, タンパク質分解

ゴルジ体は、分泌タンパク質や細胞膜局在タンパク質の量や質を調節している。即ち、これらのタンパク質が、ゴルジ体から細胞外あるいは細胞膜に向かう時に、量的、質的負荷がかかった場合には、これらのタンパク質を分解する仕組みが存在し、我々はこれを Golgi-mediated degradation pathway (GOMED) と命名した (EMBO J, 2016)。GOMED は、ゴルジ体のうち、trans-Golgi 膜のみが大きく変形して分解すべき蛋白質 (分解基質) を包み込み、その後に蛋白質分解酵素によって内容物を消化するという特徴的な形態を呈して進行する。GOMED は、酵母から哺乳動物細胞まで保存されており、真核生物にとって欠かすことのできない機能である。

今回我々は、GOMED の実行機構を解析し、ゴルジ体膜上でのリン酸化反応や、脂質分子の動態が GOMED 実行に関わっていることを見出した。GOMED の生理機能やヒト疾患との関連性も含めて成果を発表したい。

18:42-19:11 (2023-06-28 17:10 - 19:40 | C 会場)

S - D1 - C002 - 005

脂質輸送異常に起因するゴルジ体ストレスによって細胞死が引き起こされる分子機構

* 吉田秀郎 (兵庫県立大学大学院理学研究科)

キーワード: ゴルジ体, ゴルジ体ストレス応答, PI4P, コレステロール, OSBP

ゴルジ体ストレス応答は、ゴルジ体の機能が不足した時に (ゴルジ体ストレス状態) ゴルジ体の機能を増強することによってゴルジ体の恒常性を保つ生体防御機構である。小胞体で産生されたコレステロールをトランスゴルジネットワーク (TGN) に運ぶこともゴルジ体の重要な機能の一つである。この小胞体からゴルジ体へのコレステロール輸送は、OSBP という脂質輸送タンパク質によって担われている。OSBP はコレステロールを TGN に運んだ後、TGN に存在する PI4P を小胞体へ対向輸送し、PI4P は小胞体に存在する脱リン酸化酵素 SAC1 によって PI に変換される。OSBP の発現を siRNA によって抑制したり、OSBP の阻害剤 OSW-1 を用いて OSBP の活性を抑制すると、ゴルジ体ストレス応答によって OSBP とよく似た脂質輸送タンパク質である OSBP2 の発現が上昇する。しかしながら長時間 OSBP の活性を抑制すると、ゴルジ体ストレスによって細胞死が起こる。しかしながら、どのようなメカニズムによって細胞死が起こるのかは未解明であった。そこで OSW-1 処理しても細胞が死にくくなるヒト変異体細胞を GeCKO スクリーニングによって検索したところ、TGN の PI4P 合成を抑制する変異体が多数単離された。このことから、OSW-1 処理すると TGN の PI4P 濃度が高くなり、細胞死が誘導されているのではないかと考えている。TGN の PI4P 濃度が高くなると TGN の機能にどのような異常が生じるか、現在調べている。

19:11-19:40 (2023-06-28 17:10 - 19:40 | C 会場)

S - D1 - C002 - 006

均一な核ラミナ形成に関わる新規因子 PIGB

* 後藤 聡 (立教大学), 山本 (日野) 美紀 (立教大学)

キーワード: 核ラミナ, 核膜, GPI, 核膜の強度, 染色体構造

核ラミナはラミンタンパク質を主成分とする核膜の裏打ち構造であり、繊維状のラミンが核膜直下にメッシュ状のネットワークを均一に構築する。核ラミナが失われると、核膜タンパク質の局在、核の強度、染色体構造、遺伝子発現など様々な核の特性や機能が異常になることがわかっている。しかし、ラミンネットワークはあるものの、その均一性が失われるとどうなるのか、言い換えると均一なラミンネットワークの意義はよくわかっていない。

核ラミナはラミンタンパク質を主成分とする核膜の裏打ち構造であり、繊維状のラミンが核膜直下にメッシュ状のネットワークを均一に構築する。このような核ラミナは、核膜タンパク質の局在、核の強度、染色体構造、遺伝子発現など重要な役割を果たす。しかし、ラミンネットワークが均一に構築されることの意義はよくわかっていない。

私達は、偶然にもこのラミンネットワークの均一性が PIGB タンパク質によって維持されていることをショウジョウバエにおいて見出した。そこで、ラミンネットワークの均一性の意義を明らかにするために、PIGB 変異体を用い、核膜タンパク質の局在、核の強度、染色体構造、遺伝子発現について解析を行った。本発表ではそれらの結果を報告する。

Cellular functions mediated by mechanosensing and mechanoreponse

2023/6/28 17:10 ~ 19:40 | D会場

座長 : Naoyuki Inagaki (NAIST), Toshiki Itoh (Kobe Univ.)

It has become increasingly clear that mechanical forces regulate cellular functions. The main goal of this symposium is to understand molecular mechanisms mediating force-signal and signal-force transductions. We will also discuss various functions controlled by mechanical forces, including cell growth, differentiation, morphogenesis and motility as well as tissue development and pathological processes.

S - D1 - D002 - 001

Mechanical Regulation of Neural Network Formation

* Naoyuki Inagaki (Nara Institute of Science and Technology, Division of Biological Science)

17:10-17:40

S - D1 - D002 - 002

Cell surface fluctuations regulate early embryonic lineage sorting

* Ayaka Yanagida (The University of Tokyo • TMDU)

17:40-18:05

S - D1 - D002 - 003

Cell membrane mechanics and BAR proteins in cell fusion

* Kazuya Tsujita (Biosignal Research Center, Kobe University), Yumeng Wan (Biosignal Research Center, Kobe University), Linting Kou (Biosignal Research Center, Kobe University), Yuri Nemoto (Biosignal Research Center, Kobe University), Tsukasa Oikawa (Graduate School of Medicine, Hokkaido University), Toshiki Itoh (Biosignal Research Center, Kobe University)

18:05-18:30

S - D1 - D002 - 004

Function of Solo, a RhoGEF, in mechanotransduction via actin and keratin cytoskeletal remodeling

* Kazumasa Ohashi (Grad. Sch. of Life Sci., Tohoku Univ.), Ukyo Kawasaki (Grad. Sch. of Life Sci., Tohoku Univ.), Riku Maruta (Grad. Sch. of Life Sci., Tohoku Univ.), Aoi Kunitomi (Grad. Sch. of Life Sci., Tohoku Univ.), Shuhei Chiba (Grad. Sch. of Life Sci., Tohoku Univ.), Kensaku Mizuno (Grad. Sch. of Life Sci., Tohoku Univ.)

18:30-18:55

S - D1 - D002 - 005

Dermal stiffness regulates epidermal stem cell function

* Fumiko Toyoshima (Institute for Life and Medical Sciences, Kyoto University | Medical Research Institute, Tokyo Medical and Dental University)

18:55-19:20

S - D1 - D002 - 006

総合討論 / Discussion

19:20-19:40

17:10-17:40 (2023-06-28 17:10 - 19:40 | D会場)

S - D1 - D002 - 001

Mechanical Regulation of Neural Network Formation

* Naoyuki Inagaki (Nara Institute of Science and Technology, Division of Biological Science)

キーワード : axon guidance, cell migration, synapse formation, synaptic plasticity, shootin1

The generation of protrusive forces against microenvironments is essential to drive neural wiring processes, including neuronal migration, axon guidance, synapse formation and synaptic plasticity. A variety of extracellular signals, such as diffusible and nondiffusible axon guidance molecules, neurotransmitters, and environmental stiffness, regulate these processes. Axon guidance guided by diffusible and substrate-bound chemicals are called chemotaxis and haptotaxis, respectively. Environmental mechanical properties also regulate axon guidance, and cell movement guided by extracellular stiffness is referred to as durotaxis. We report that the clutch molecule shootin1 and cell adhesion molecule L1-CAM constitute a tunable molecular clutch system that transduces netrin-1-induced chemotactic signal, laminin-induced haptotactic signal and durotactic signal to the forces regulating axon outgrowth and guidance. This tunable clutch system also mediates neuronal migration, dendritic spine formation and structural synaptic plasticity. We further show that this mechanism is disrupted in a human patient with L1-CAM syndrome, suffering corpus callosum agenesis and corticospinal tract hypoplasia.

17:40-18:05 (2023-06-28 17:10 - 19:40 | D会場)

S - D1 - D002 - 002

Cell surface fluctuations regulate early embryonic lineage sorting

* Ayaka Yanagida (The University of Tokyo • TMDU)

キーワード : Early embryo development, Cell sorting, Cell surface dynamics

In development, lineage segregation is coordinated in time and space. The PrE (founder of the yolk sac) physically segregates from the EPI (founder of the fetus) in a mammalian blastocyst. The physical mechanisms determining spatial segregation between EPI and PrE remain elusive. We investigate the mechanical basis of EPI • PrE sorting. We find that the differences in surface fluctuations robustly ensure physical lineage sorting. These differential surface fluctuations systematically correlate with differential cellular fluidity, which we propose together constitute a non-equilibrium sorting mechanism for EPI • PrE lineages. By combining experiments and modelling, we identify cell surface dynamics as a key factor orchestrating the correct spatial segregation of the founder embryonic lineages.

18:05-18:30 (2023-06-28 17:10 - 19:40 | D会場)

S - D1 - D002 - 003

Cell membrane mechanics and BAR proteins in cell fusion

* Kazuya Tsujita (Biosignal Research Center, Kobe University), Yumeng Wan (Biosignal Research Center, Kobe University), Linting Kou (Biosignal Research Center, Kobe University), Yuri Nemoto (Biosignal Research Center, Kobe University), Tsukasa Oikawa (Graduate School of Medicine, Hokkaido University), Toshiki Itoh (Biosignal Research Center, Kobe University)

キーワード : Plasma membrane tension, Cell fusion, BAR domain proteins, Membrane-cortex attachment

Cell fusion is not only required for fundamental biological processes, including osteoclastogenesis and myogenesis, but also is associated with pathological conditions such as viral spread and cancer malignancy. In osteoclast and myoblast fusion, actin-rich membrane protrusions occur at the fusion interface between adjacent cells, which underlies cell-cell fusion. However, how their formation is regulated, especially from a physical aspect, is poorly understood. Here, we found that plasma membrane tension, defined by membrane-cortex attachment, and BAR proteins, which induce and sense membrane curvature, play an important role in cell fusion. We will discuss the mechanisms of how cells control cell fusion by coordinately regulating membrane mechanics and membrane-actin regulators.

18:30-18:55 (2023-06-28 17:10 - 19:40 | D会場)

S - D1 - D002 - 004

Function of Solo, a RhoGEF, in mechanotransduction via actin and keratin cytoskeletal remodeling

* Kazumasa Ohashi (Grad. Sch. of Life Sci., Tohoku Univ.), Ukyo Kawasaki (Grad. Sch. of Life Sci., Tohoku Univ.), Riku Maruta (Grad. Sch. of Life Sci., Tohoku Univ.), Aoi Kunitomi (Grad. Sch. of Life Sci., Tohoku Univ.), Shuhei Chiba (Grad. Sch. of Life Sci., Tohoku Univ.), Kensaku Mizuno (Grad. Sch. of Life Sci., Tohoku Univ.)

キーワード：mechanotransduction, actin cytoskeleton, intermediate filaments, RhoGEF, Solo

The cells that compose our bodies are constantly subjected to various mechanical forces, and execute different physiological responses by sensing and responding to forces. Remodeling of the actin cytoskeleton is essential for mechanical stress responses. Rho family small GTPases are molecular switches to assemble the specific actin structures individually. Rho-guanine nucleotide exchange factors (RhoGEFs), a diverse family of proteins, spatiotemporally regulate the activity of Rho family GTPases and facilitate specific cellular responses. We previously identified Solo (ARHGEF40) as one of the RhoGEFs involved in mechanical stress response. We showed that Solo is required to activate RhoA in cells subjected to tensile force. Furthermore, we found that Solo binds to keratin-8/keratin-18 (K8/K18) intermediate filaments and that this interaction is required for the force-induced RhoA activation. We also showed that Solo is required for the proper K8/K18 network formation in the cells. To investigate the function of Solo in the epithelial cell population, we examined the effect of Solo knockdown on the collective cell migration of Madin-Darby canine kidney (MDCK) epithelial cells. As a result, the depletion of Solo significantly accelerated the velocity of collective cell migration. We next examined whether the localization of Solo is regulated by subjecting forces and found that Solo accumulates to the cell-cell adhesion sites where the tensile force is subjected. We investigated the proteins responsible for the localization of Solo and found that plakoglobin, a component of the desmosome, is required for the localization of Solo at cell-cell adhesion sites. We also searched for the molecular mechanisms of how Solo regulates actin cytoskeletal remodeling at the local sites in the cells and found that PDZ-RhoGEF, which is involved in mechanical stress responses, binds to Solo and Solo regulates the localization and activity of PDZ-RhoGEF. Our findings suggest that Solo regulates the mechanical stress responses via K8/K18 networks in the desmosome and the remodeling actin cytoskeleton through the RhoGEF cascade.

18:55-19:20 (2023-06-28 17:10 - 19:40 | D会場)

S - D1 - D002 - 005

Dermal stiffness regulates epidermal stem cell function

* Fumiko Toyoshima (Institute for Life and Medical Sciences, Kyoto University | Medical Research Institute, Tokyo Medical and Dental University)

キーワード：メカノバイオロジー, 皮膚, 老化, 硬さ, Piezo1

The interfollicular epidermal stem cells (IFESCs) proliferate and differentiate to maintain skin homeostasis. The accumulation of DNA damage is an intrinsic cue for IFESC dysfunction. However, whether there is an external microenvironmental cue that triggers IFESC dysfunction remains obscure. We found that vasculature involution causes dermal stiffening that results in premature differentiation of IFESCs in aged skin. Aging-related IFESC dysfunction is correlated with prolonged calcium influx, which is contributed by the mechanoresponsive channel Piezo1. The dermis stiffened with age, which was accompanied by dermal vasculature atrophy. Our findings show that the vasculature softens the microenvironment for epidermal stem cell maintenance.

ウェルやマイクロチューブ等の小径容器に最適！
Rタイプは室温以下に冷却可能。多検体処理に。

恒温振とう培養機

MBR-022R/K

本体価格 ¥380,000/¥330,000



タイテックのNewブランド
【ネクスト】

- 低騒音で安定した本体。狭い棚上にも複数台設置可能。従来機より騒音値50%以上軽減。
- ペルチェで却可能なRタイプ、加熱専用のKタイプ
- 使用温度
+15°C～+60°C (R)
室温+7°C～+60°C (K)
- ウェルプレートなら2個、マイクロチューブラックなら2個架



◀ラックを用いた積み重ね例

アルミブロック恒温槽

CTU-R/DTU-R

本体価格 ¥265,000/¥165,000 (ブロック別売)



タイテックのNewブランド
【ネクスト】



- ペルチェで冷却可能なCTU-R、加熱専用DTU-R
- 使用温度範囲
0°C～+105°C (CTU-R)
室温+5°C～+105°C (DTU-R)



別売ハーフ / フルブロックの組合せで多種の容器に対応可能！

マイクロチューブや遠沈管を加熱冷却
+105°Cまで。冷却可能タイプはフロンフリー。

タイテック株式会社 販売サービス部 <http://TAITEC.net/>



〒343-0822 埼玉県越谷市西方2693-1 TEL: 048-988-8359 FAX: 048-988-8362 Email: senden@taitec.org

2023年6月29日（木）

2日目

シンポジウム、ランチョン、プレナリー

Dynamic landscape of membranes in motion

2023/6/29 09:00 ~ 11:30 | A 会場

座長 : Fubito Nakatsu (Niigata Univ.), Min Wu (Yale Univ.)

Co-sponsored by Scientific Research on Innovative Areas [Multimode Autophagy: Diverse Pathways and Selectivity]

Dynamic behavior and function of cellular membranes are controlled by a concerted action of diverse regulatory factors. This symposium will discuss emerging topics in our current understanding of membrane organization and dynamics across multiple scales, ranging from single molecule dynamics to higher order molecular assembly. Recent advances on local signaling, membrane contact sites, membrane-cytoskeletal crosstalk as well as multidisciplinary approaches including imaging, mathematical modeling or chemical biology will be highlighted.

S - D2 - A001 - 001

始めに /Introduction

09:00-09:01

S - D2 - A001 - 002

Topographical guidance by macropinocytic membrane patches.

* Satoshi Sawai (University of Tokyo)

09:01-09:23

S - D2 - A001 - 003

Lipid countertransport at membrane contact sites

* Fubito Nakatsu (Department of Neurochemistry and Molecular Cell Biology, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Niigata University)

09:23-09:45

S - D2 - A001 - 004

Nano-liquid platform for receptor signal integration which promotes tumor growth

* Akihiro Kusumi (Okinawa Institute of Science and Technology Graduate University (OIST), Membrane Cooperativity Unit)

09:45-10:07

S - D2 - A001 - 005

Molecular mechanisms underlying nuclear membrane deformation during nucleophagy

* Hitoshi Nakatogawa (School of Life Science and Technology, Tokyo Institute of Technology)

10:07-10:29

S - D2 - A001 - 006

Self-organization of periodic circumferential actin cables from the anisotropic behaviors of actin nanoclusters during tubulogenesis

* Sayaka Sekine (RIKEN BDR, Laboratory for Morphogenetic Signaling | Tohoku University, Graduate School of Life Sciences), Mitsusuke Tarama (RIKEN BDR, Laboratory for Physical Biology | Kyushu University, Faculty of Science, Department of Physics), Tatsuo Shibata (RIKEN BDR, Laboratory for Physical Biology), Shigeo Hayashi (RIKEN BDR, Laboratory for Morphogenetic Signaling)

10:29-10:44

S - D2 - A001 - 007

Force sensing at the lamellipodium tip by actin barbed ends : Brownian ratchet relationship or catastrophic disassembly?

* Naoki Watanabe (Kyoto Univ. Grad. Sch. Biostudies | Kyoto Univ. Grad. Sch. Medicine)

10:44-11:06

S - D2 - A001 - 008

Paradoxical Circuits Regulated by Lipid Metabolism

* Wu Min (Yale University)

11:06-11:28

S - D2 - A001 - 009

終わりに /Closing

11:28-11:30

09:01-09:23 (2023-06-29 09:00 - 11:30 | A会場)

S - D2 - A001 - 002

Topographical guidance by macropinocytic membrane patches.

* Satoshi Sawai (University of Tokyo)

キーワード : macropinocytic cup, pi3k, mathematical model, Dictyostelium

We have recently identified a distinct mode of topographical guidance directed by the macropinocytic membrane cup in Dictyostelium. The macropinocytic membrane cup is driven by the Ras/PI3K/F-actin signaling patch and its dependency on the micrometer-scale topographic features; namely PI3K/F-actin-independent accumulation of Ras-GTP at the convex curved surface, PI3K-dependent patch propagation along the convex edge and its actomyosin-dependent constriction at the concave edge. Our recent mathematical model of macropinocytic cup formation demonstrates how mutually-defining patch patterning and the membrane deformation in combination with topographically dependent initiation of the patches give rise to the topographical guidance.

09:23-09:45 (2023-06-29 09:00 - 11:30 | A会場)

S - D2 - A001 - 003

Lipid countertransport at membrane contact sites

* Fubito Nakatsu (Department of Neurochemistry and Molecular Cell Biology, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Niigata University)

キーワード : Phosphatidylinositol 4-phosphate, membrane contact site, endosome, membrane trafficking, actin

Phosphatidylinositol 4-phosphate (PI4P), the most abundant phosphorylated phosphoinositide, has been shown to regulate a variety of cellular processes including membrane trafficking, signaling and lipid metabolism. Notably, accumulating recent evidence highlights an emerging role of PI4P in non-vesicular lipid transport via membrane contact sites (MCSs). MCSs are morphologically defined intracellular structures where cellular membranes such as organelles or the plasma membrane (PM) are closely apposed. MCSs serve as platforms for non-vesicular inter-organelle lipid transport, which is mediated by so-called lipid transfer proteins (LTPs). LTPs accommodate their lipid ligands within their hydrophobic cavity and transfer them between cellular membranes via MCSs. We have shown that oxysterol-binding proteins (ORPs), as LTPs, mediate counterdirectional transport of two different lipids at MCSs. PI4P, which has been proposed to be a common ligand of ORPs, is transported along its concentration gradient between apposed membranes, thus promoting the counterdirectional transport of other lipids. This unique "PI4P-driven lipid countertransport" not only contributes to cellular lipid distribution, but also regulates cellular processes such as signaling and membrane trafficking. Our recent evidence indicates that such lipid countertransport is tightly coupled to cytoskeletal reorganization to control cellular membrane dynamics. In this symposium, I will discuss the PI4P-driven lipid countertransport system, with a particular focus on its contribution to the regulation of cellular membrane dynamics.

09:45-10:07 (2023-06-29 09:00 - 11:30 | A会場)

S - D2 - A001 - 004

Nano-liquid platform for receptor signal integration which promotes tumor growth

* Akihiro Kusumi (Okinawa Institute of Science and Technology Graduate University (OIST), Membrane Cooperativity Unit)

キーワード : signaling platform, receptor-type tyrosine kinases, CD59, raft domains, liquid-liquid phase separation

Crosstalk of cellular signaling pathways is essential for integrating them for inducing coordinated final cell responses. However, how signaling molecules are assembled to induce signal integration remains largely unknown. In cancer development, both cancer promotion by the receptor-type tyrosine kinase (RTK) pathway and immune evasion by the CD59 pathway are important, suggesting the occurrence of the crosstalk between these pathways. Here, using advanced single-molecule imaging, we found a nanometer-scale liquid-like platform for integrating the signals downstream from GPI-anchored receptors and receptor-type tyrosine kinases. The platform employs some of the focal adhesion proteins, including integrin, talin, RIAM, VASP, and zyxin, but is distinct from focal adhesions, and is thus termed iTRVZ. The iTRVZ formation is driven by the protein liquid-liquid phase separation (LLPS) and the interactions with the raft domains in the plasma membrane and cortical actin. iTRVZ non-linearly integrates the two distinctly different receptor signals, and thus works as an AND gate and noise filter. Inhibition of iTRVZ formation by blocking LLPS suppressed tumor development in mouse.

10:07-10:29 (2023-06-29 09:00 - 11:30 | A 会場)

S - D2 - A001 - 005

Molecular mechanisms underlying nuclear membrane deformation during nucleophagy

* Hitoshi Nakatogawa (School of Life Science and Technology, Tokyo Institute of Technology)

キーワード : autophagy, nucleophagy, nucleus, Atg protein, ESCRT

Autophagy, a lysosome/vacuole-mediated degradation system, largely contributes to degradation of intracellular components for their turnover or elimination and is thereby involved in the maintenance and regulation of a wide range of cellular activities. Degradation targets of autophagy are sequestered within a double membrane vesicle called the autophagosome, which subsequently fuses with the lysosome or vacuole for degradation of the targets. In our previous studies, we discovered that parts of the nucleus are degraded by autophagy in the budding yeast *Saccharomyces cerevisiae*, a pathway called nucleophagy. Nucleophagy involves a specific protein, Atg39, which localizes to the outer nuclear membrane and initiates autophagosome formation in the vicinity of the nucleus by recruiting core Atg proteins responsible for the process. Concomitantly, a double membrane vesicle of ~200 nm buds from the nuclear envelope and sequestered within the autophagosome. Although targeting this nucleus-derived double membrane vesicle (NDV) to the forming autophagosomal membrane is suggested to be mediated by the interaction between Atg39 and the autophagosomal membrane protein Atg8, how the nuclear envelope deforms remains unclear. In this symposium, I will present our recent results and therewith propose a model about how the nuclear envelope protrudes toward the cytoplasm and causes fission to form NDVs.

10:29-10:44 (2023-06-29 09:00 - 11:30 | A 会場)

S - D2 - A001 - 006

Self-organization of periodic circumferential actin cables from the anisotropic behaviors of actin nanoclusters during tubulogenesis

* Sayaka Sekine (RIKEN BDR, Laboratory for Morphogenetic Signaling | Tohoku University, Graduate School of Life Sciences), Mitsusuke Tarama (RIKEN BDR, Laboratory for Physical Biology | Kyushu University, Faculty of Science, Department of Physics), Tatsuo Shibata (RIKEN BDR, Laboratory for Physical Biology), Shigeo Hayashi (RIKEN BDR, Laboratory for Morphogenetic Signaling)

キーワード : Actin, Tubular tissue, Imaging, Coarse-grained molecular dynamics simulation, *Drosophila*

The periodic circumferential cytoskeleton supports various tubular tissues. Radial expansion of the tube lumen causes anisotropic tensile stress, which can be exploited as a geometric cue. However, the molecular machinery linking anisotropy to robust circumferential patterning is poorly understood. Here, we aimed to reveal the emergent process of circumferential actin cable formation in a *Drosophila* tracheal tube. During luminal expansion, sporadic actin nanoclusters emerge and exhibit circumferentially biased motion and fusion. RNAi screening revealed the formin family protein, DAAM, as an essential component of tensile stress sensing, and non-muscle myosin II as a component required for nanocluster fusion. A coarse-grained molecular dynamics simulation demonstrated that crosslinkers play a crucial role in nanocluster formation and cluster-to-cable transition occurs in response to mechanical anisotropy. Altogether, we propose that the actin nanocluster is an organizational unit that senses stress in the cortical membrane and builds a higher-order cable structure.

10:44-11:06 (2023-06-29 09:00 - 11:30 | A 会場)

S - D2 - A001 - 007

Force sensing at the lamellipodium tip by actin barbed ends : Brownian ratchet relationship or catastrophic disassembly?

* Naoki Watanabe (Kyoto Univ. Grad. Sch. Biostudies | Kyoto Univ. Grad. Sch. Medicine)

キーワード : Lamellipodium, Force sensing, Brownian ratchet, Single-molecule imaging, Catastrophic disassembly

Lamellipodium has a unique thin and flat morphology, commonly found in many types of animal cells. It contains densely-packed F-actin whose fast-growing barbed end is directed toward the cell edge. With this polarized architecture, F-actin is thought to push the plasma membrane. A previous single-molecule study in my lab found that traction force applied locally to the cell periphery through deformable PDMS culture substrates effectively enhances actin assembly exclusively near the lamellipodium tip. This enhanced polymerization leads to gradual local cell protrusion beyond the distance of cell edge pulling. Quantitatively, traction force-induced actin assembly obeys the force-speed relationship predicted by the Brownian ratchet (BR) relationship. This was the first demonstration of cellular actin barbed ends operating through BR mechanisms. Morphological features of the lamellipodium and the ceaseless actin retrograde flow appear to congruently facilitate the fast actin polymerization and cell protrusion toward the traction force. I will discuss the possibility that the lamellipodium is the most prototypical force-sensing organ of the cell (Plasma Membrane Shaping, 295-306, 2023). I will also discuss its relationship with our recent finding of fast actin disassembly near the barbed end (eLife 11 : e69031, 2022).

Paradoxical Circuits Regulated by Lipid Metabolism

* Wu Min (Yale University)

キーワード : oscillations, waves, pattern

Non-linear and paradoxical circuits play a crucial role in organizing and regulating the dynamics of living systems. One example is the rhythmic contractile behavior that occurs in the cortex of living cells, which is essential for cells to change shape. Our recent research indicates that the pulsatile activation of Rho GTPase on the plasma membrane is regulated by two coupled networks that involve both lipid metabolism and nonvesicular lipid transport. These two networks operate on different time scales and are linked in a way that generates both simple oscillations with different periodicities and complex mixed-mode oscillations. We thus propose that the phosphoinositide-Rho GTPase signaling network is poised at the edge of chaos, and small changes in the kinetic parameters of the phosphoinositide metabolism network enable cells to rapidly transition into various ordered states. The identification and visualization of these oscillations offer unprecedented opportunities to investigate signal transduction in the living systems using a dynamical systems framework.

「細胞外キャリア」の多様性とその形成機構

2023/6/29 09:00 ~ 11:30 | B会場

座長：小根山 千歳（愛知県がんセンター研究所）、福田光則（東北大学大学院生命科学研究所）

【共催】JST CREST | 細胞外微粒子 |

細胞間の物質送達システムとして機能する様々な脂質膜小胞が見出されてきた。この「細胞外キャリア」には、エンドソーム由来のエクソソームおよび、マイクロベシクル、マイグラソーム等の細胞膜に由来する様々な細胞外小胞が含まれる。さらにウイルスも、これら細胞外キャリア形成機構を利用している。本シンポジウムでは、現在活躍中の若手研究者を中心に、これら多様な細胞外キャリアの形成機構やその制御機構に関する最新の知見を紹介して頂き、共通点や相違点について議論したい。

S - D2 - B001 - 001

始めに /Introduction

09:00-09:03

S - D2 - B001 - 002

細胞膜に由来する細胞外小胞の受容細胞への取り込みと情報伝達機構

* 西村 珠子 (奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究所 バイオサイエンス領域), 末次 志郎 (奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究所 バイオサイエンス領域)

09:03-09:27

S - D2 - B001 - 003

新規エクソソーム分泌制御因子の同定と治療応用

* 吉岡 祐亮 (東京医科大学 医学総合研究所 分子細胞治療研究部門)

09:27-09:51

S - D2 - B001 - 004

Extracellular vesicles in epithelial cell homeostasis

* 松沢 健司 (九州大学大学院理学研究院生物科学部門), 池ノ内 順一 (九州大学大学院理学研究院生物科学部門)

09:51-10:15

S - D2 - B001 - 005

TIM4-affinity 法を利用した細胞外キャリアの多様性解析

* 吉田 孟史 (金沢大学ナノ生命科学研究所)

10:15-10:39

S - D2 - B001 - 006

ウイルス粒子形成に伴うオルガネラの再構築

* 有井 潤 (神戸大学 医学研究科)

10:39-11:03

S - D2 - B001 - 007

エクソソームの多様性を生み出す仕組みとは？

* 福田光則 (東北大学大学院生命科学研究所膜輸送機構解析分野)

11:03-11:27

S - D2 - B001 - 008

終わりに /Closing

11:27-11:30

09:03-09:27 (2023-06-29 09:00 - 11:30 | B会場)

S - D2 - B001 - 002

細胞膜に由来する細胞外小胞の受容細胞への取り込みと情報伝達機構

* 西村 珠子 (奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域), 末次 志郎 (奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域)

キーワード: 細胞外小胞, I-BAR タンパク質, F-BAR タンパク質, エンドサイトーシス

細胞外小胞は、細胞が分泌する脂質膜小胞で、受容細胞への情報伝達を行うとともに、がんなどの様々な疾患の形成にも関与することが知られている。しかしながら、細胞外小胞が受容細胞にどのように作用し、どのように小胞の情報を伝達するのか、その分子機構は未だ解明されていない。細胞外小胞は、エンドソームに由来する小胞であるエクソソームと、細胞膜に由来する小胞の、大きく2つに分類される。我々は、細胞膜由来の細胞外小胞が、I-BAR ファミリータンパク質を介した細胞突起の形成・切断により分泌されることを報告した。I-BAR タンパク質 MIM による細胞外小胞は、がん細胞を含む受容細胞で、細胞移動を促進した。我々は、MIM による細胞外小胞の受容機構を調べたところ、細胞膜の陥入を起こす F-BAR タンパク質を介した、小胞のエンドサイトーシスに関与すること、それにより、小胞が内包し細胞移動を促進する Rac1 が、受容細胞へ伝達されることを見出した。一方、我々は、I-BAR タンパク質 IRSp53 が、がん細胞の細胞突起から細胞外小胞を形成し、がん細胞の細胞増殖を促進することを見出した。IRSp53 による細胞外小胞の情報伝達には、インテグリンと細胞外マトリックスとの結合が関与していた。従って、細胞膜由来の細胞外小胞は、様々な経路を介して、受容細胞への情報伝達を行うことが示唆された。

09:27-09:51 (2023-06-29 09:00 - 11:30 | B会場)

S - D2 - B001 - 003

新規エクソソーム分泌制御因子の同定と治療応用

* 吉岡 祐亮 (東京医科大学 医学総合研究所 分子細胞治療研究部門)

キーワード: Exosome, Extracellular vesicles, microRNA, Drug repositioning, Cancer

がん細胞と周囲の細胞間もしくは転移巣間における細胞外小胞 (EVs) を介した細胞間コミュニケーションは、がんの転移に大きな影響を及ぼすことが知られている。われわれは、がん細胞が分泌する EVs が、がんの悪性化に寄与することを明らかにしており、EVs を介した細胞間コミュニケーションを断つことが、がんの新たな治療戦略の一つとなりうると考えた。したがって、われわれは EVs を標的とした新たながん治療戦略の開発として、乳がん細胞において、EVs の分泌を制御する microRNA およびその標的遺伝子を同定した。また、われわれは卵巣がんの腹膜播種転移に卵巣がん細胞由来 EVs が関与していることを明らかにしており、低分子化合物ライブラリとわれわれが開発したエクソソーム定量法である ExoScreen 法を組み合わせ、卵巣がん細胞の EV 分泌を阻害する低分子化合物を探索した。現在、同定した EV 分泌阻害剤の作用点について、解析を行っており、がん細胞における EV 分泌のメカニズム解明を目指している。今後、これらのエクソソーム分泌抑制因子および化合物が、がんの新しい創薬に繋がることが期待される。また、エクソソームの分泌を制御する因子を同定することで、エクソソームの分泌経路の詳細な解明とエクソソームが介する生命現象の解明に貢献しうる。

09:51-10:15 (2023-06-29 09:00 - 11:30 | B会場)

S - D2 - B001 - 004

Extracellular vesicles in epithelial cell homeostasis

* 松沢 健司 (九州大学大学院理学研究院生物科学部門), 池ノ内 順一 (九州大学大学院理学研究院生物科学部門)

キーワード: 上皮細胞, 細胞外小胞, アポトーシス

Epithelial cells adhere to each other through adhesion structures to form a contiguous cell sheet, which constitutes the functional unit of epithelial tissue that works as a barrier to separate the interior of organs from the external environment. Therefore, maintaining the integrity of the epithelial cell sheet by rapidly repairing any breach is of utmost importance in tissue homeostasis. In one example, apoptotic cells are eliminated from the epithelial cell sheet by a mechanism called apical cell extrusion, which requires a concerted response by the cells immediately surrounding the apoptotic cell. However, the mechanisms of apoptotic cell recognition by the surrounding cells and mobilization of coordinated behavior by them is not sufficiently elucidated. Intercellular communication can

10:15-10:39 (2023-06-29 09:00 - 11:30 | B会場)

S - D2 - B001 - 005

TIM4-affinity 法を利用した細胞外キャリアの多様性解析

* 吉田 孟史 (金沢大学ナノ生命科学研究所)

キーワード: 細胞外キャリア, エクソソーム, ホスファチジルセリン, TIM4

エクソソームやマイクロベシクルなどに代表される細胞外キャリアは、タンパク質、核酸、脂質などの分泌細胞由来の情報を載せた小胞であり、周囲あるいは遠隔の細胞への情報伝達を担う。様々な疾患や生命現象において細胞外キャリアの関与が報告されており、疾患診断や治療への応用が期待されている。細胞外キャリアはさまざまな形成機構で産生され、積荷の種類や機能が異なる多様な細胞外キャリアが分泌されるため、臨床応用を目指すには多様性の理解、制御、分離精製が非常に重要である。

細胞外キャリアの多様性解析において、高感度検出と高純度精製は避けては通れない課題である。特にエクソソームなどの 30-150 nm の細胞外キャリアは一般的には超遠心法により単離されるが、タンパク質凝集体などが一緒に回収されることが問題となっていた。私達のグループでは、細胞外キャリアの膜にホスファチジルセリン (PS) が露出していることに着目し、PS 結合タンパク質 TIM4 を利用した細胞外キャリアの高感度検出法・高純度精製法を開発してきた。この TIM4-affinity 法を基盤技術として、オミックス解析、原子間力顕微鏡 (AFM) による生理条件下でのイメージングと物理特性解析、フローサイトメトリー法による一粒子解析などに応用している。また、高感度検出法によるケミカルライブラリーのスクリーニングにより、細胞外キャリアの分泌を制御可能な低分子化合物を複数取得した。本講演ではそれらを活用した細胞外キャリアの生理機能解析、多様性解析、形成機構解析についてご紹介する。

10:39-11:03 (2023-06-29 09:00 - 11:30 | B会場)

S - D2 - B001 - 006

ウイルス粒子形成に伴うオルガネラの再構築

* 有井 潤 (神戸大学 医学研究科)

キーワード: ウイルス, オルガネラ, 粒子形成

真核細胞は、膜構造の内外を厳密に区分することで複雑な細胞内小器官を形成している。宿主細胞の中でしか増えることができないウイルスにとって、これらの膜は克服しなければならない障壁であり、ウイルスは巧みに宿主細胞膜を再構築することで増殖していることが知られている。ヘルペスウイルスは、ヒトに脳炎を始めとして多彩な疾患群を引き起こす、医学上重要なウイルスである。ヘルペスウイルスは、核内でゲノム複製を行うエンベロープウイルスであり、細胞質において成熟粒子の形成を行うという、極めて複雑な生活環を持つ。ゲノム複製後に核内で形成されるヘルペスウイルスカプシドは、核内膜をエンベロープとして被ることによって出芽し、核膜腔領域に小胞構造を形成する。その後、核膜間小胞の膜と核外膜が融合することで、核膜間小胞に内包されたカプシドが細胞質へ放出される。細胞質においてカプシドは細胞質内小胞に再び出芽することで成熟ウイルス粒子が形成され、その後細胞外へと放出される。

ウイルス粒子の形成過程と、生理的に形成される細胞外小胞との類似は多くの研究によって示されている。一方で、ウイルス粒子形成に伴う「膜オルガネラの改変」の機序はほとんど明らかとなっていない。これまで我々は、ヘルペスウイルス粒子形成に様々な宿主細胞因子が貢献することを示してきた。興味深いことに、これらの宿主細胞因子の阻害は、オルガネラの形態にも大きな影響を与えていた。本発表では、ヘルペスウイルスが宿主細胞の膜オルガネラを改変し、ウイルス粒子形成を行う分子機構について、宿主タンパク質や脂質の関与を中心に最新の知見を紹介したい。

11:03-11:27 (2023-06-29 09:00 - 11:30 | B会場)

S - D2 - B001 - 007

エクソソームの多様性を生み出す仕組みとは？

* 福田光則 (東北大学大学院生命科学研究科膜輸送機構解析分野)

キーワード:

エクソソームは内膜系に由来する細胞外小胞の一種で、細胞間コミュニケーションの役割を担う「細胞外キャリア」として確固たる地位を確立しつつある。最近、一つの細胞からサイズや組成の異なる多様なエクソソームが分泌されることが明らかになってきたが、その多様性を生み出す仕組みは謎に包まれていた。そこで私達は、エクソソームの多様性を効率良く研究するため、極性を持つ上皮細胞 (MDCK 細胞株) に着目した。上皮細胞は外環境と接する頂端膜、生体内と接する側底膜が密着結合により空間的・物理的に隔てられているため、それぞれの膜から放出されたエクソソームを別個に回収し、解析することが可能である。これまでの研究で、頂端膜側と側底膜側から放出されるエクソソームのマーカータンパク質の組成は大きく異なること (頂端膜側: CD63 豊富、側底膜側: CD9 及び CD81 豊富)、両者の元となる多胞体の内腔小胞の形成は別個に制御されていることが明らかになっている (*EMBO Rep.*, 2021)。すなわち、頂端膜エクソソームの形成には ALIX-Syntenin1-Syndecan1 複合体が、側底膜エクソソームの形成には中性スフィンゴミエリナーゼ 2 を介したセラミド代謝が独立に機能していた。さらに、形成した 2 種類の多胞体は別々の低分子 G タンパク質 Rab を介する機構 (頂端膜側: Rab27 及び Rab37、側底膜側: Rab39) により、それぞれ頂端膜、側底膜方向へと輸送されることが明らかになった (*Cell Rep.*, 2022)。興味深いことに、これらの機構は極性を持たないような HeLa 細胞などにも保存されており、一つの細胞から多様なエクソソームを生み出すのに貢献しているものと考えられる。

多細胞システムの自律性を支える競合的・協調的コミュニケーション

2023/6/29 09:00 ~ 11:30 | C会場

座長：石谷 太 (大阪大学微生物病研究所)、井垣 達吏 (京都大学生命科学研究科)

【共催】学術変革領域研究 (A) [多細胞生命自律性]

多細胞生命システムは、自発的に組織や器官を構築する自律性を備えている。細胞集団が自発的に構造を作り出す仕組みが徐々に明らかになりつつある一方で、その形成・維持過程で細胞集団が自身の構造や機能を自ら最適化するメカニズムはほとんど不明であった。近年、細胞間の様々な協調的・競合的コミュニケーションが、多細胞生命システムの自己最適化を支えていることがわかってきた。本シンポジウムでは、多細胞システムの自律性を支える様々なタイプの細胞間コミュニケーションに関する最新の知見を紹介し、細胞集団の自己最適化の原理について議論したい。

S - D2 - C001 - 001

細胞競合の分子機構：上皮細胞はいかにして隣接細胞のフィットネスを感知するのか？

* 井垣 達吏 (京都大学大学院生命科学研究科)

09:00-09:24

S - D2 - C001 - 002

Contact Inhibition of Protein Synthesis (CIPS)

* 藤田 恭之 (京都大学医学研究科)

09:24-09:48

S - D2 - C001 - 003

雄マウスの生殖細胞系列におけるクローンの選択と集団自律性

* 池田 達郎 (基礎生物学研究所 生殖細胞研究部門), Maurice Langhinrichs (ドイツ癌研究センター / ハイデルベルク大学), Tamar Nizharadze (ドイツ癌研究センター / ハイデルベルク大学), Hans-Reimer Rodewald (ドイツ癌研究センター / ハイデルベルク大学), Thomas Höfer (ドイツ癌研究センター / ハイデルベルク大学), 吉田 松生 (総合研究大学院大学 生命科学研究科)

09:48-10:12

S - D2 - C001 - 004

細胞間張力がモルフォゲン勾配の自律性を支える

* 石谷 太 (大阪大学微生物病研究所)

10:12-10:36

S - D2 - C001 - 005

Erebosis, a new cell death mechanism during homeostatic turnover of gut enterocytes

* Sa Kan Yoo (RIKEN)

10:36-11:00

S - D2 - C001 - 006

エクソソームを介した細胞間コミュニケーション：病態寄与機構とバイオマーカー解析

* 星野 歩子 (東京大学先端科学技術研究センター)

11:00-11:24

S - D2 - C001 - 007

総合討論 / Discussion

11:24-11:30

細胞競合の分子機構：上皮細胞はいかにして隣接細胞のフィットネスを感知するのか？

* 井垣 達吏 (京都大学大学院生命科学研究科)

キーワード：細胞競合, 上皮細胞, 細胞死, オートファジー

細胞競合とは、生体内で隣り合う細胞間でフィットネスのより高い細胞（勝者）が低い細胞（敗者）を排除する現象であり、細胞集団のクオリティを自律的に最適化する役割を果たしていると考えられる。細胞競合は、単独では生存可能な変異細胞が野生型細胞に囲まれると排除されるタイプと、がん原性の変異細胞が隣接する野生型細胞を排除する「スーパーコンペティション」と呼ばれるタイプの2つに大別できる。前者のタイプはさらに、単独では腫瘍化するがん原性変異細胞（極性崩壊細胞など）が野生型細胞に近接すると排除される「がん抑制型細胞競合」と、形態的には野生型細胞と区別がつかない viable な変異細胞が野生型細胞に近接すると排除される「組織最適化型細胞競合」に分けることができる。我々はこれまで、ショウジョウバエをモデル生物として用い、がん抑制型細胞競合の分子機構を明らかにしてきた。それにより見えてきたことは、がん抑制型細胞競合と組織最適化型細胞競合は異なるメカニズムによって駆動されているという事実であった。組織最適化型細胞競合では、形態的に正常な変異細胞が排除されることから、正常細胞がいかにして変異細胞を認識しているのかは大きな謎である。我々は最近、組織最適化型細胞競合とスーパーコンペティションにおいて共通して敗者細胞でタンパク質合成能が低下しており、これが細胞競合のトリガーとして働いている可能性を見いだした。さらに、いずれの細胞競合においても敗者細胞がオートファジー依存的なアポトーシスにより排除されることを見いだした。現在、勝者-敗者間のタンパク質合成能の差が細胞競合における細胞認識に寄与するという仮説のもと、敗者細胞におけるオートファジー誘導メカニズムの解析を進めており、その解析結果について議論したい。

Contact Inhibition of Protein Synthesis (CIPS)

* 藤田 恭之 (京都大学医学研究科)

キーワード：Contact inhibition of protein synthesis, 細胞競合, Mahjong

細胞層において細胞が増殖を重ねて高密度になり、compact な状態になった時に、増殖が止まる。この現象は接触阻害 (contact inhibition) と呼ばれる多細胞生命体が備えた重要な恒常性維持機構の一つとして知られている。一方で、細胞層が高密度になった時に、増殖のみならず、タンパク質合成も抑制されることが明らかになってきた。我々はこの現象を Contact Inhibition of Protein Synthesis (CIPS) と命名し、その分子メカニズムの解明を目指している。

我々は以前に、ショウジョウバエ、哺乳類の両者において、細胞競合に関与する分子として Mahjong を同定した (Tamori et al., 2010, PLoS Biology)。興味深いことに、最近の研究で、Mahjong が細胞競合のみならず、CIPS を制御する重要な因子であることが分かってきた。今回のトークでは、Mahjong と CIPS に関する最新のデータを紹介するとともに、Mahjong が細胞競合と CIPS という二つの多細胞恒常性維持機構において機能を有するその意義についてもディスカッションしたい。

雄マウスの生殖細胞系列におけるクローンの選択と集団自律性

* 池田 達郎 (基礎生物学研究所 生殖細胞研究部門), Maurice Langhinrichs (ドイツ癌研究センター/ハイデルベルク大学), Tamar Nizharadze (ドイツ癌研究センター/ハイデルベルク大学), Hans-Reimer Rodewald (ドイツ癌研究センター/ハイデルベルク大学), Thomas Höfer (ドイツ癌研究センター/ハイデルベルク大学), 吉田 松生 (総合研究大学院大学 生命科学研究科)

キーワード：細胞系譜, バーコード, 生殖細胞, マウス, クローン動態

ほ乳類において、次世代に遺伝情報を伝える配偶子（精子・卵）は胎仔期に生じた数十～数千の始原生殖細胞（PGCs）に由来する。これまで、PGCs から配偶子に至る細胞集団の発生過程が盛んに研究され、移動・分化・エピゲノムプログラミングといった現象の理解が進んだ。その一方で、集団中の個々の PGC がどの程度成体の配偶子・次世代に寄与するのかは不明だった。

我々はマウスの PGCs を非常に多様な DNA バーコードで個別に標識して、個々の PGC の子孫細胞（PGC クローン）を総体的に追跡する実験系を構築した。これを用いて、雄の胎仔から成体、さらに次世代に至る PGC クローンの動態を解析してきた。その結果、PGC クローンの一部が発生初期に消失すること、生き残った PGC クローンは不均一に占有を拡大すること、（クローンの多様性は維持されながらも）より拡大できた winner の PGC クローンが結果的に多数の精子・次世代の仔を作り出すことが分かった。このことは、何らかの要因によってクローンの勝ち負けが生じること、それが生殖細胞の品質管理やゲノム・エピゲノムの選択的遺伝に寄与しうることを示唆する。

本発表では我々がこれまで明らかにしてきた生殖細胞のクローン動態と、生殖細胞集団の最適化におけるその役割を議論する。さらに、クローンの勝ち負けが発生過程でどのように決定されるのかは不明である。内因・環境要因あるいはクローン間相互作用といった現象が寄与しうると想定される。現在は winner の PGC クローンが持つ遺伝子発現特性を探索しており、その試みに関しても紹介する。

細胞間張力がモルフォゲン勾配の自律性を支える

* 石谷 太 (大阪大学微生物病研究所)

キーワード: モルフォゲン勾配, 細胞競合, 張力

モルフォゲン勾配は、組織を構成する各細胞に連続した位置情報を与え、場に適合した運命を誘導する多細胞生命システムである。我々は最近、ゼブラフィッシュイメージング解析により、正常な胚発生過程においてモルフォゲン勾配を乱す異常細胞が頻繁に自然発生することと、勾配を乱す異常細胞が細胞競合によって排除され、勾配が自律的に修復されることを見いだした。すなわち、細胞競合がモルフォゲン勾配の自律性を支えることを発見した (Akieda et al, Nat Commun 2019)。しかしながら、その分子メカニズムの詳細は未解明である。これまでに、モルフォゲン勾配を乱す異常細胞で生じる細胞接着分子カドヘリンの量的変化が細胞競合が起動することまではわかっているが、このカドヘリン量変化を隣接正常細胞がどのように感知して細胞競合を起動するのか、そのメカニズムの詳細はほとんど不明である。本シンポジウムでは、細胞間張力が細胞競合を介したモルフォゲン勾配の修復を支えることを報告する。まず、ゼブラフィッシュ胚において Wnt シグナルがカドヘリン安定化を介して細胞間張力を増大させること、その結果として Wnt モルフォゲン勾配に相関した張力勾配が胚に形成されることを見出した。また、Wnt モルフォゲン勾配を乱す Wnt シグナル異常細胞ではカドヘリンの量が変化し、結果として細胞間張力の局所的異常を誘導し、この局所的張力異常を隣接細胞が感知し、細胞競合が起動することを発見した。このように、胚組織全体に形成される張力勾配が一種のセンサーとして働いて異常細胞を感知・排除することでモルフォゲン勾配の正確な形成を支えることが明らかになった。

Erebosis, a new cell death mechanism during homeostatic turnover of gut enterocytes

* Sa Kan Yoo (RIKEN)

キーワード: 細胞死, エレボシス, 腸, ショウジョウバエ

Many adult tissues are composed of differentiated cells and stem cells, each working in a coordinated manner to maintain tissue homeostasis during physiological cell turnover. Old differentiated cells are believed to typically die by apoptosis. Recently, we discovered a previously uncharacterized, new phenomenon, which we named erebosis based on the ancient Greek word erebos ("complete darkness"), in the gut enterocytes of adult *Drosophila*. Cells that undergo erebosis lose cytoskeleton, cell adhesion, organelles and fluorescent proteins, but accumulate Angiotensin-converting enzyme (Ance). Their nuclei become flat and occasionally difficult to detect. Erebotic cells do not have characteristic features of apoptosis, necrosis, or autophagic cell death. Inhibition of apoptosis prevents neither the gut cell turnover nor erebosis. We hypothesize that erebosis is a cell death mechanism for the enterocyte flux to mediate tissue homeostasis in the gut. We will present our recent progress towards mechanistic understanding of erebosis.

エクソソームを介した細胞間コミュニケーション: 病態寄与機構とバイオマーカー解析

* 星野 歩子 (東京大学先端科学技術研究センター)

キーワード: エクソソーム, 臓器連関, プロテオミクス, 前転移ニッチ, 細胞間コミュニケーション

エクソソームはがん細胞を含めた全ての細胞から産生される小胞である。オリジンとなる細胞に由来したタンパク質、核酸、脂質などの様々な細胞情報を含み、我々の体内を循環している。採血などで得られるエクソソームに含まれる総合的な情報は、体内状態を反映し、数多くの疾患のバイオマーカーとして期待されている。さらに、ヒトの血漿 1 ミリリットルから何百億から何兆ものエクソソームを回収することができることや、安定性が高いこともエクソソーム研究の活性化に繋がっている。

我々はこれまでに、400 以上のがん及び非がんサンプルを含む細胞株、切除組織、血漿、骨髄液、リンパ液等の様々なヒト由来のエクソソームのプロテオミクス解析を行った。その結果、血漿由来エクソソームによりがん患者と健康者を、そしてがん患者をがん種別に、エクソソームに含まれるタンパク質により高精度で同定できることを報告してきた。

次に、我々はがん細胞由来エクソソームがバイオマーカーとしてだけでなくがん進展にも寄与する機能分子であることを肺、肝臓、脳転移に関して証明してきた。興味深いことに、臓器特異性を有するがん細胞 (肺、肝臓、脳) に由来するエクソソームは、ウイルスと同じくらいのサイズ (30-150nm) であるにも関わらず、肺や肝臓だけでなく脳関門を通り抜け脳内にも取り込まれることが分かった。さらに、がん細胞はエクソソームをいち早く転移先の臓器に送り込み、その環境を変えることでがん細胞が転移できる場所を作り上げることを明らかにした。

本講演ではがんエクソソームの関係以外にも、エクソソームを介した臓器連関が妊娠高血圧腎症などがん以外の疾患においても、病態に関わり、バイオマーカーにもなる可能性など、エクソソームが寄与する新たな疾患生物学についてお話しする。

「観る」を通して築いた軌跡と若手研究者へのメッセージ

2023/6/29 09:00 ~ 11:30 | D会場

座長：細胞生物若手の会

科学者は誰しも、何かの現象を“観る”ことによって、その現象を解明する。特に細胞生物学者は、顕微鏡を通して、細胞レベルから組織レベルの生命現象を見ているだろう。本シンポジウムでは、顕微鏡とその周辺技術において著名な研究者を演者に迎え、豊富な研究キャリアと共に研究の着眼点や、これまでの研究で見てきたモノ・コトについてご講演を頂く。さらに、学生や若手研究者へのエールを目的として、研究キャリアを築いていく中での試行錯誤や苦労話について聴衆参加型のパネルディスカッションを行い、若手の会企画らしく活気のあるシンポジウムを展開する。

S - D2 - D001 - 001

始めに /Introduction

09:00-09:05

S - D2 - D001 - 002

生細胞蛍光イメージングの黎明と躍進

* 平岡 泰 (大阪大学)

09:05-09:25

S - D2 - D001 - 003

核構造を“見る”—Live から Live CLEM へ—

* 原口 徳子 (大阪大学大学院生命機能研究科)

09:25-09:45

S - D2 - D001 - 004

ナノポアで一分子を「観る」

* 川野竜司 (東京農工大学工学研究院)

09:45-10:05

S - D2 - D001 - 005

Cruising in the cells

* 宮脇 敦史 (理化学研究所 脳神経科学研究センター 細胞機能探索技術研究チーム)

10:05-10:25

S - D2 - D001 - 006

休憩

10:25-10:35

S - D2 - D001 - 007

パネルディスカッション

10:35-11:30

09:05-09:25 (2023-06-29 09:00 - 11:30 | D会場)

S - D2 - D001 - 002

生細胞蛍光イメージングの黎明と躍進

* 平岡 泰 (大阪大学)

キーワード：蛍光顕微鏡, 超解像顕微鏡, 蛍光タンパク質, 生細胞イメージング

生細胞蛍光イメージングが生まれて30年余が経った。蛍光イメージング技術の進歩は、蛍光顕微鏡技術の開発と蛍光色素・蛍光タンパク質の開発が互いに琢磨しながら進歩を加速してきた好例である。その黎明から現在に至る躍進を振り返り、将来の期待へとつなげたい。

1980年代は、生体試料の3次元像を正確に画像化することが模索された。3次元生体試料の顕微鏡像は、点像が広がることにより非焦点情報が焦点面に漏れ込んでくるために、分解能が低下することが問題であった。この問題を解決するために共焦点顕微鏡とデコンボリューション法が開発された。

1990年代は、GFPが分子生物学の舞台に登場し、生細胞蛍光イメージングの普及の引き金を引いた。工夫を凝らした改変型GFPが開発され、それに対応して蛍光顕微鏡の開発が加速した。また、生細胞への励起光の毒性を抑えるために微弱な蛍光を検出する必要があり、高感度カメラの開発を加速した。2000年代は、回折限界を超える超解像蛍光顕微鏡の開発が進んだ。その一つSTEDは誘導放出光で点像の広がりを小さくする。またlocalization microscopyと総称される手法は、蛍光分子の位置を正確に決めることで点描画のように像を描き出す。ここでも1990年代に開発された光活性化型や明滅型GFPが貢献した。

2010年代は、超解像蛍光顕微鏡が回折限界を超えたことによって、それまで問題にならなかった光学的な課題が顕在化してきた。例えば、わずかな球面収差や試料自体が持つ屈折率による解像度の低下である。これが、光学系、特に対物レンズの改良を加速した。

2020年代にはいり、今後はこれらの光学的な課題を解決するとともに、生細胞蛍光イメージングでしか成し得ない、生物の機能を生きたままイメージングするための蛍光プローブやゲノム編集など細胞機能の改変技術の開発が期待される。

09:25-09:45 (2023-06-29 09:00 - 11:30 | D会場)

S - D2 - D001 - 003

核構造を“見る”—LiveからLive CLEMへ—

* 原口 徳子 (大阪大学大学院生命機能研究科)

キーワード：蛍光ライブセルイメージング, ライブクレム, 細胞核, 核膜

細胞核は、遺伝情報を内包する細胞内器官である。適時的な遺伝子発現を通して、細胞機能の全てを制御する。細胞核は、非常にダイナミックな構造であり、細胞分裂においては、核膜が崩壊し、染色体凝縮・整列・分配の後に、核膜再形成によって細胞核が再構築される。この核膜構造の再構築は、細胞核機能に必須であり、その破綻は、癌や筋ジストロフィー、早老症など、様々な疾患の原因となる。細胞分裂の過程を正確に知るためには、生きた細胞で細胞構造や特定の分子の挙動を“見る”ことが重要である。このような考えの下、我々は、生きた細胞で特定の分子を視るための蛍光ライブセルイメージング法を構築してきた。GFPをはじめとする蛍光タンパク質の開発により、蛍光ライブセルイメージング法は、広く利用できる非常に優れた研究ツールとなった。しかし、一方では、蛍光イメージングは、蛍光標識した目的分子（例えば、核膜を構成する特定のタンパク質）だけしか視ることができず、標識していない核膜タンパク質や細胞構造（例えば、脂質膜や微小管など）を視ることが出来ないという欠点があった。それを補完する方法として、核膜再構築の過程を正確に評価するためにライブクレム (Live CLEM) 法を構築した。この方法では、まず生きた細胞で蛍光ライブセルイメージングをしたのと同じサンプルを電子顕微鏡で観察する。電子顕微鏡法は、空間解像度が高いものの、分子特異性が低いという弱点があった。しかし、蛍光顕微鏡と電子顕微鏡を組み合わせることによって、両者の利点をより活かすイメージングが可能となった。本講演では、細胞核構造の研究として、ライブセルイメージングやライブクレムイメージングの有用性について議論したい。

09:45-10:05 (2023-06-29 09:00 - 11:30 | D会場)

S - D2 - D001 - 004

ナノポアで一分子を「観る」

* 川野竜司 (東京農工大学工学研究院)

キーワード：ナノポア, 一分子計測, 論文投稿

ナノポア計測はナノサイズのポアを持つ膜タンパク質を利用し、そのポアを通過する分子を、電氣的に観測する手法である。最近、ナノポア DNA シーケンサが実用化され、基礎研究から応用まで幅広い研究分野に発展してきている。本講演では、ナノポア計測に関して特に最近我々が取り組んできた一分子を観測しながら分取するナノポアフィルタとその論文投稿の際に起こった出来事に関して紹介したい。

Cruising in the cells

* 宮脇 敦史 (理化学研究所 脳神経科学研究センター 細胞機能探索技術研究チーム)

キーワード: バイオイメージング, 蛍光タンパク質

今生物学はデータ駆動型のアプローチが盛んである。より実証的な意味において、生命現象を記述するための同時観測可能なパラメータをどんどん増やす試みが重要である。我々は、細胞の心をつかむためのスパイ分子を開発している。材料となるのは主に蛍光タンパク質である。自ら発色団を形成して蛍光活性を獲得するタンパク質である。遺伝子導入技術の進歩のおかげで、蛍光タンパク質を利用したスパイ分子がますます活躍している。我々はまた、新しい蛍光タンパク質を求めて、様々な生き物（主に刺胞動物）からのクローニングを行っている。狙いのひとつは、蛍光の様々な物理特性を、蛍光タンパク質から引き出して、新しいスタイルのイメージング技術を開発することだ。

超マイクロ決死隊を結成し、微小管の上をジェットコースターのように滑走したり、核移行シグナルの旗を掲げてクロマチンのジャングルに潜り込んだりして細胞の中をクルージングする、そんな adventurous な遊び心もちたいと思う。大切なのは科学の力を総動員することと、想像力をたくましくすること。そしてたとえば whale watching を楽しむような心のゆとりが serendipitous な発見を引き寄せるのだと信じている。

株式会社ニコンソリューションズ

12:15-13:15 (2023-06-29 12:15 - 13:15 | A会場)

L - D2 - A001 - 001

生体イメージングによる免疫炎症動態の解明：新たな病原性細胞の発見

* 石井 優 (大阪大学大学院生命機能研究科)

キーワード：生体イメージング, 免疫・炎症, 多光子励起顕微鏡, マクロファージ, 細胞動態

生命システムでは「動き」が重要である。多種多様な細胞の動態は時空間的に精緻にコントロールされている。このようなシステムの研究には、従来の組織学的解析法では不十分であった。固定・薄切した組織観察では、細胞の「形態」や「分子発現」などを解析することはできるが、細胞の「動き」を解析することはできない。細胞の動きを見るためには、「生きた細胞」を、「生きた組織」「生きた個体」の中で観察する必要がある。本講演では、演者がこれまで行ってきた様々な組織における生体イメージングと可視化情報に基づいたシングルセル解析の実際を紹介し、見ることによって初めて分かった様々な細胞の巧妙な動きや、生体を見ることによって見つかった新たな細胞種について解説する。

カールツァイス株式会社

12:15-12:25 (2023-06-29 12:15 - 13:15 | D会場)

L - D2 - D001 - 001

幅広いアプリケーションに最適な低ダメージ・高速・超解像・ライブセルイメージング

* 市川 明彦 (カールツァイス株式会社)

キーワード: 超解像顕微鏡, イメージング, ライブセル, 低ダメージ, 高速

超解像顕微鏡はその技術の進歩とニーズの高まりにより、ライフサイエンス分野において急速な広がりを見せています。ZEISS では、このニーズの高まりとその変化に合わせて、革新的な超解像顕微鏡を発表し続けて参りました。研究者の皆様のご要望にお応えする豊富な ZEISS 超解像顕微鏡ラインナップの中から、今回は、幅広いアプリケーション・ライブセルに最適な超解像顕微鏡システムをデータ例と共にご紹介致します。

12:25-13:15 (2023-06-29 12:15 - 13:15 | D会場)

L - D2 - D001 - 002

哺乳類細胞における新規リソソーム分解経路の発見

* 田口 友彦 (東北大学大学院生命科学研究科)

キーワード: リソソーム, オートファジー, 超解像顕微鏡, 自然免疫, ユビキチン

自然免疫は先天的に備わっている異物に対する応答機構であり、感染初期の生体防御において重要な役割を果たしている。近年、DNA ウイルス感染時に宿主の細胞質に持ち込まれるウイルス DNA に結合して活性化する酵素 cyclic GMP-AMP synthase (cGAS)、および cGAS によって産生されるセカンドメッセンジャー cyclic GMP-AMP (cGAMP) に結合する小体タンパク質 STING が相次いで同定された。cGAMP に結合した STING は TBK1 キナーゼを活性化し、ついで活性化した TBK1 が IRF3 や NF- κ B などのインターフェロン応答および炎症応答に関与する転写因子を活性化する。この cGAS-STING 経路によって、我々は DNA ウイルスの侵入を速やかに感知し、感染を食い止めている。さらに最近、cGAS-STING 経路がウイルス感染時だけでなく、老化や腫瘍免疫などにおいても極めて重要な役割を果たしているとの報告が多数発表され注目を浴びている。

ここ数年の間に STING シグナルの活性化分子機構について多くの論文が発表され、trans-Golgi network で STING が TBK1 を活性化すること、その過程に STING のパルミトイル脂質修飾が必須であることなどが明らかになった。その一方で、trans-Golgi network で活性化した STING シグナルがどのように終結するのかは不明であった。今回、AiryScan を駆使した超解像顕微鏡を利用して STING の post-Golgi 輸送経路を詳細に解析したところ、リソソームが直接 STING 膜を内包化して分解する現象を見出した (Kuchitsu et al., Nat Cell Biol 2023)。本演題では、この新規リソソーム分解経路の制御因子およびその破綻によって引き起こされる疾患について、最新の我々の知見を紹介させて頂く。

座長：Shuhei Nakamura (Osaka University)

13:30-14:15 (2023-06-29 13:30 - 14:30 | BC 会場)

PL - D2 - BC001 - 001

Deciphering the mysteries of sleep: toward the molecular substrate for “sleepiness”

* Masashi Yanagisawa (International Institute for Integrative Sleep Medicine (WPI-IIS), University of Tsukuba)

キーワード：sleep

Although sleep is a ubiquitous behavior in animal species with central nervous systems, the neurobiology of sleep remain mysterious. Our discovery of orexin, a hypothalamic neuropeptide involved in the maintenance of wakefulness, has helped reveal neural pathways in the regulation of sleep/wakefulness. Orexin receptor antagonists, which specifically block the endogenous waking system, have been approved as a new drug to treat insomnia. Also, since the sleep disorder narcolepsy-cataplexy is caused by orexin deficiency, orexin receptor agonists are expected to provide mechanistic therapy for narcolepsy; they will likely be also useful for treating excessive sleepiness due to other etiologies.

Despite the fact that the executive neurocircuitry and neurochemistry for sleep/wake switching has been increasingly revealed in recent years, the mechanism for homeostatic regulation of sleep, as well as the neural substrate for "sleepiness" (sleep need), remains unknown. To crack open this black box, we have initiated a large-scale forward genetic screen of sleep/wake phenotype in mice based on true somnographic (EEG/EMG) measurements. We have so far screened >10,000 heterozygous ENU-mutagenized founders and established a number of pedigrees exhibiting heritable and specific sleep/wake abnormalities. By combining linkage analysis and the next-generation whole exome sequencing, we have molecularly identified and verified the causal mutations in several of these pedigrees. Biochemical and neurophysiological analyses of these mutations are underway. Indeed, through a systematic cross-comparison of the Sleepy mutants (with a gain-of-function change in a serine/threonine kinase pathway) and sleep-deprived mice, we have found that the cumulative phosphorylation state of a specific set of mostly synaptic proteins may be the molecular substrate of sleep need.

座長：Tamotsu Yoshimori (Osaka University)

14:45-15:45 (2023-06-29 14:45 - 15:45 | BC 会場)

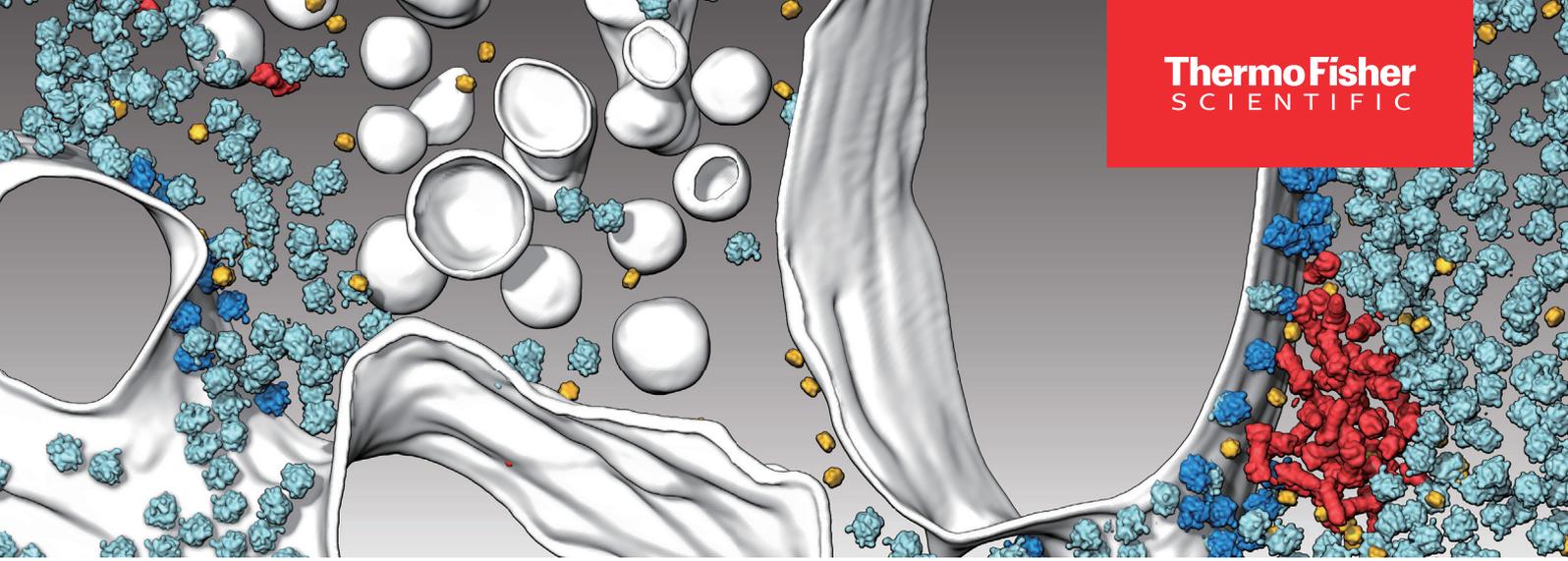
PL - D2 - BC002 - 001

Cellular membrane dynamics and cancer

* Harald Stenmark (Institute for Cancer Research, Oslo University Hospital, Norway | Centre for Cancer Cell Reprogramming, Faculty of Medicine, University of Oslo, Norway)

キーワード：cellular membrane dynamics, cancer, phosphoinositides, ESCRT, drug discovery

When trying to understand the cellular processes that gradually transform normal cells into cancer cells, most focus has been on changes in DNA and on signalling pathways that control cell proliferation and survival. In our laboratory we have been interested in the fact that most cancer-relevant cellular processes depend on proteins that interact with cellular membranes. The dynamic rearrangements of cellular membranes therefore control processes that prevent normal cells from transforming into cancer cells, and dysregulation of cellular membrane dynamics is indeed frequently involved in cancer progression. We have been investigating the molecular biology of membrane dynamics that controls genome integrity, signal transduction, nutrient uptake, metabolism, survival and invasion, with special emphasis on phosphorylated membrane lipids known as phosphoinositides, and a multi-subunit molecular machinery known as ESCRT. This has led to the discovery of novel molecules that either prevent or accelerate cancer progression.



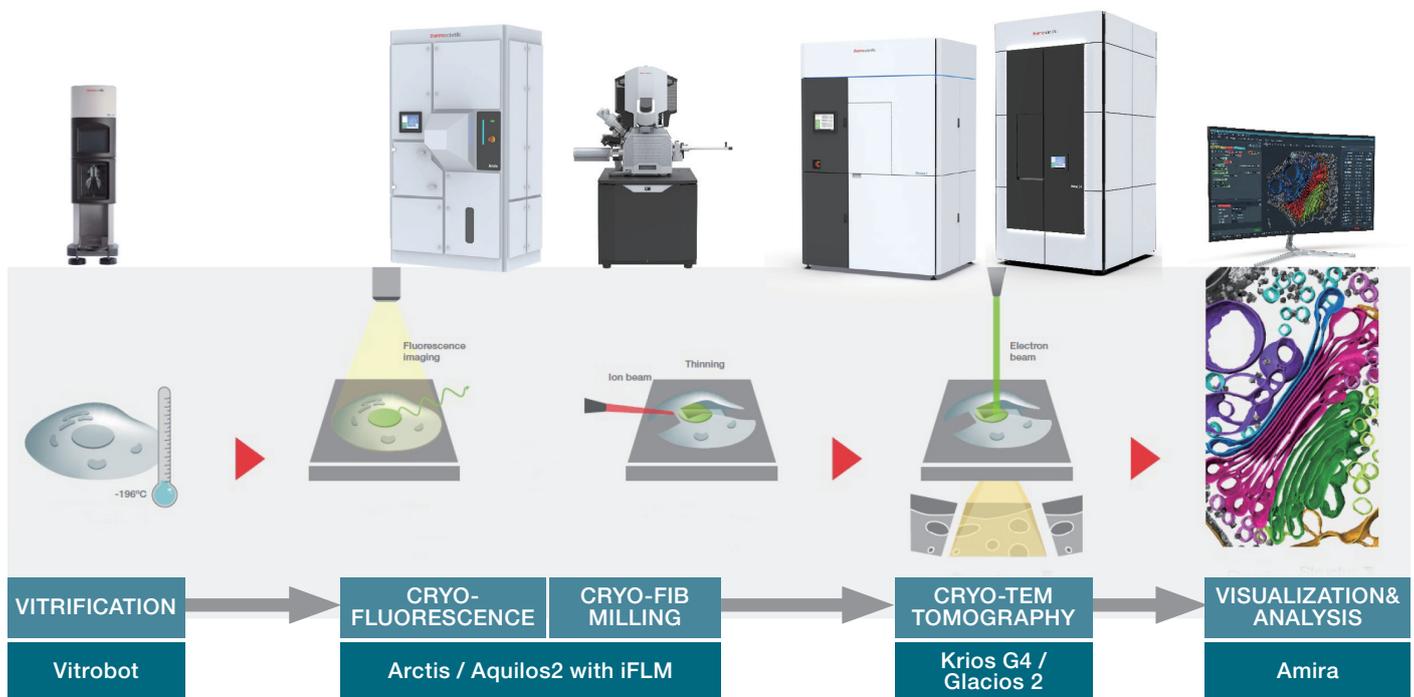
Cryo-electron tomography reveals a phase-separated protein degradation microcompartment at the ER membrane. Data courtesy of Dr. Benjamin Engel, formerly Max Plank Institute for Biochemistry, now Helmholtz Zentrum München. Data visualization with Amira Software.

Resolve protein structures inside cells

Cryo-electron tomography allows you to visualize and study proteins in their functional cellular environments at unprecedented resolution. This 3D imaging technique provides insights into complex supramolecular structures and assemblies that cannot be achieved by conventional purification and structural imaging methods.

Connected cryo-electron tomography workflow

The Thermo Scientific™ Arctis™ Cryo-Plasma-FIB automates high-throughput TEM lamellae production and features Autoloader connectivity for the cryo-electron tomography workflow. Specially designed TomoGrids also ensure correct lamella alignment to the tomographic tilt axis, from initial milling through high-resolution TEM imaging. The direct connection to any Autoloader-equipped cryo-TEM (e.g., Thermo Scientific Krios™ G4 or Glacios™ 2 Cryo-TEMs) eliminates manual grid handling and transfer steps between FIB-SEM and TEM.



お問合せ先:
日本エフイー・アイ株式会社
Tel 03-3740-0970

〒140-0002 東京都品川区東品川4-12-2
品川シーサイドウエストタワー1F
Email: JPTOK.sales-jp@thermofisher.com

Learn more at thermofisher.com/arctis

thermo scientific

For research use only. Not for use in diagnostic procedures. For current certifications, visit thermofisher.com/certifications

© 2023 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified. MSDEM-AD001-JP-03-2023

2023年6月30日（金）

3日目

シンポジウム、ランチョン、プレナリー

Information physics of cell

2023/6/30 09:00 ~ 11:30 | A 会場

座長 : Kazuhiro Aoki (NINS), Yasushi Okada (The Univ. of Tokyo / RIKEN)

Scientific Research on Innovative Areas [Information Physics of Living Matters]

"Information" is an indispensable keyword in the various layers of life science including cell biology. However, it is still challenging for dealing with information in biological phenomena. Meanwhile, in physics, a recent theoretical framework enables us to discuss information as a physical property. In this symposium, we invite researchers using the theoretical framework of information physics and discuss the future perspective of information physics of cell biology.

S - D3 - A001 - 001

はじめに /Introduction

09:00-09:05

S - D3 - A001 - 002

Cross-talk between focal adhesions and microtubules in directed cell migration

* Yukako Nishimura (Institute for Genetic Medicine, Hokkaido University), Thasaneeya Kuboki (Institute for Materials Chemistry and Engineering, Kyushu University), Satoru Kidoaki (Institute for Materials Chemistry and Engineering, Kyushu University), Fumio Motegi (Institute for Genetic Medicine, Hokkaido University)

09:05-09:30

S - D3 - A001 - 003

Efficient information usage by cells - and cell biologists

* Keita Kamino (Institute of Molecular Biology, Academia Sinica, Taipei, Taiwan)

09:30-09:55

S - D3 - A001 - 004

Shannon entropy and perplexity to describe and visualize chemical diversity with surrounding cells by Mass Spectrometry

Imaging 質量分析イメージングによる周辺細胞との化学的多様性の表現と可視化のためのシャノンエントロピーとパープレキシティ

* Xu Lili (Hamamatsu University School of Medicine)

09:55-10:10

S - D3 - A001 - 005

Topological defects as "fingerprints" of cell populations

* Kazumasa A. Takeuchi (The University of Tokyo)

10:10-10:35

S - D3 - A001 - 006

Signal generation by Ras excitability for cell migration

* Satomi Matsuoka (Osaka University, Graduate School of Frontier Biosciences), Masahiro Ueda (Osaka University, Graduate School of Frontier Biosciences)

10:35-11:00

S - D3 - A001 - 007

Multiplexed information coding in C.elegans neural circuit

* Yu Toyoshima (Department of Biological Sciences, Graduate School of Science, The University of Tokyo), Ayaka Matsumoto (Department of Biological Sciences, Graduate School of Science, The University of Tokyo), Yuichi Iino (Department of Biological Sciences, Graduate School of Science, The University of Tokyo)

11:00-11:25

S - D3 - A001 - 008

終わりに /Closing

11:25-11:30

09:05-09:30 (2023-06-30 09:00 - 11:30 | A会場)

S - D3 - A001 - 002

Cross-talk between focal adhesions and microtubules in directed cell migration

* Yukako Nishimura (Institute for Genetic Medicine, Hokkaido University), Thasaneeya Kuboki (Institute for Materials Chemistry and Engineering, Kyushu University), Satoru Kidoaki (Institute for Materials Chemistry and Engineering, Kyushu University), Fumio Motegi (Institute for Genetic Medicine, Hokkaido University)

キーワード : cell migration, focal adhesion, microtubule, GEF-H1

Cell migration is a fundamental process in many biological events, such as development, cancer metastasis and immune responses. To migrate directionally, cells establish integrin-mediated adhesions (focal adhesions) to adhere and sense the extracellular environment. How dynamic turnover of focal adhesions is co-ordinated with the front-to-rear axis during cell migration is one of the challenging problems. Microtubules are thought to physically target and induce adhesion turnover, but its molecular mechanisms have not been fully understood.

We previously identified that KANK (Kidney ANKyrin repeat domain) proteins connect focal adhesions to microtubule ends. This 'capture' of microtubules by KANK traps RhoGEF GEF-H1 on microtubules, which decreases myosin IIA activity and induces disassembly of focal adhesions. I will propose the mechanism underlying the local control of KANK-to-GEF-H1 axis and discuss its contribution to directed cell migration.

09:30-09:55 (2023-06-30 09:00 - 11:30 | A会場)

S - D3 - A001 - 003

Efficient information usage by cells - and cell biologists

* Keita Kamino (Institute of Molecular Biology, Academia Sinica, Taipei, Taiwan)

キーワード : Information theory, Bayesian inference, Cell signaling, FRET, Chemotaxis

Organisms acquire and use sensory information to guide their behaviors. Likewise, scientists acquire and use the information contained in experimental data to understand systems of interest. In both cases, the amount of information available is limited, so using it efficiently is critical. In this talk, I will discuss two aspects of information usage. First, I explore information usage by cells, describing how we have discovered that motile *E. coli* cells acquire very little information but use it efficiently. Second, I examine information usage by scientists, elaborating on how faced with noisy fluorescence data from *E. coli* cells, we developed a method to extract relevant signals from raw data with theoretically maximal efficiency. Finally, I examine similarities between the two.

09:55-10:10 (2023-06-30 09:00 - 11:30 | A会場)

S - D3 - A001 - 004

Shannon entropy and perplexity to describe and visualize chemical diversity with surrounding cells by Mass Spectrometry Imaging

質量分析イメージングによる周辺細胞との化学的多様性の表現と可視化のためのシャノンエントロピーとパープレキシティ

* Xu Lili (Hamamatsu University School of Medicine)

キーワード：質量分析イメージング, シャノンエントロピー, パープレキシティ

Background: Mass spectrometry imaging (MSI) allows the observation of the spatial distribution of sample molecules. However, conventional MSI methods have limitations in fully capturing the diversity of molecular information within cells and comparing molecular information from adjacent regions at the cellular level. Shannon entropy is a measure that represents the randomness and disorderliness of information.

Method: Using the kidneys of C57BL/6J male mice (aged 3, 4, and 31 months), we conducted MALDI-MSI experiments using iMScope (manufacturer: Shimadzu Corporation). To quantify the information contained in each spot, we utilized Shannon entropy. We introduced the exponent k to represent the spatial distribution of entropy's spatial distribution.

Results: Using a heatmap of Shannon entropy, we visually represented the distribution of information across the entire mass spectrum. We can visualize new quantities, such as regions with low entropy. The kidneys of 3-month-old mice showed a tendency of lower average entropy compared to the kidneys of 31-month-old mice. Additionally, we have also developed an approach to visualize observations by incorporating the concept of perplexity, derived from entropy, to coarse-grain the diversity of spatial and mass information. Analysis of the kidneys of 4-month-old mice revealed a power-law behavior through perplexity.

Conclusion: At a spatial resolution of $25 \mu\text{m}$, each pixel is approximately the same size as a cell. In conventional MSI studies, molecular information primarily focused on the tissue level has been analyzed, making it challenging to analyze molecular information contained within individual pixels. In this study, we successfully resolved molecular information at the level of individual pixels. This enables the analysis of the chemical composition of individual cells on the sample and the characterization of chemical heterogeneity with neighboring cells.

10:10-10:35 (2023-06-30 09:00 - 11:30 | A会場)

S - D3 - A001 - 005

Topological defects as "fingerprints" of cell populations

* Kazumasa A. Takeuchi (The University of Tokyo)

キーワード：cell population, topological defect, active matter, collective dynamics

One of the missions of information physics for cell populations is to find out a small set of variables controlling population-level properties. In this context, "topological defects" (points of local mismatch of cell orientation) play important roles, as recent studies reported that they are relevant to cell accumulation and dispersion, as well as morphogenesis of certain organism (see 細胞 55, 166 (2023年3月号), DOI: 10.51094/jxiv.293). Here I present our recent finding that the development of 3D structure can change some characteristics of topological defects, which we found in colony growth of bacterial populations (DOI: 10.1093/pnasnexus/pgac269). Since 3D development also takes place in cell tissues, our results can be relevant to a potentially wide class of dense cell populations.

10:35-11:00 (2023-06-30 09:00 - 11:30 | A会場)

S - D3 - A001 - 006

Signal generation by Ras excitability for cell migration

* Satomi Matsuoka (Osaka University, Graduate School of Frontier Biosciences), Masahiro Ueda (Osaka University, Graduate School of Frontier Biosciences)

キーワード：cell migration, cell polarity, excitability, Ras

Signals arise spontaneously in living cells to drive migration without inputs from the environment. In eukaryotic amoeboid cells, the intracellular signaling network exerts as an excitable system that self-organizes the domain where active Ras is enriched on the cell membrane thus determining the anterior-posterior polarity. It has been found that the excitability is regulated by minor lipids in the membrane such as sphingomyelin by the combination of a pharmacological blockade of the metabolism and super-resolution microscopy. Here, we discuss a mechanistic basis for the regulation, similar to a stochastic resonance, by the noises generated through the metabolism, which provides an optimal membrane environment to ensure stochastic fluctuations of sufficient magnitude for excitation.

Multiplexed information coding in *C.elegans* neural circuit

* Yu Toyoshima (Department of Biological Sciences, Graduate School of Science, The University of Tokyo), Ayaka Matsumoto (Department of Biological Sciences, Graduate School of Science, The University of Tokyo), Yuichi Iino (Department of Biological Sciences, Graduate School of Science, The University of Tokyo)

キーワード : *C. elegans*, Neural circuits, Calcium imaging, Behavior, Systems neuroscience

The Nervous system of *C. elegans* is one of multi-cellular systems and provides unique opportunities to understand their dynamics because all the neurons and their connections had been identified. *C. elegans* migrates toward NaCl concentrations at which it was cultivated in the presence of food. During the chemotaxis behavior, two different tactic strategies are used separately depending on the direction of NaCl concentration gradient. The information of the direction will be encoded as a temporal pattern of activities of sensory neurons. By using calcium imaging of behaving animals, we found how the downstream neural networks decode the information.

膜交通経路におけるオルガネラ時空間ダイナミクス ～保存性と多様性～

2023/6/30 09:00 ~ 11:30 | BC会場

座長：加藤晃一（自然科学研究機構）、植村知博（お茶の水女子大学）、戸島拓郎（理化学研究所）

横河電機株式会社、CREST「細胞内ダイナミクス」

細胞内で合成された分泌／膜タンパク質は、様々なオルガネラを介した膜交通経路により目的地へと運ばれる。これらオルガネラの配置や構造は、生物種によって大きく異なる一方、膜交通の分子機構には高い保存性があることが分かってきた。本シンポジウムでは、様々な生物種を対象にして、分子レベルと細胞レベルの双方向からのアプローチによるオルガネラ時空間ダイナミクスの最先端の研究成果をもとに、膜交通機構の統合的理解に迫りたい。

S - D3 - BC001 - 001

始めに /Introduction

09:00-09:04

S - D3 - BC001 - 002

植物細胞のゴルジ体形成ダイナミクスから見る小胞体 - ゴルジ体境界の保存性と多様性

* 伊藤 容子 (お茶の水女子大学 ヒューマンライフサイエンス研究所)

09:04-09:25

S - D3 - BC001 - 003

膜交通経路におけるタンパク質特異的な糖鎖修飾メカニズム

* 矢木 宏和 (名古屋市立大学大学院薬学研究科 | 自然科学研究機構生命創成探究センター), 加藤晃一 (名古屋市立大学大学院薬学研究科 | 自然科学研究機構生命創成探究センター)

09:25-09:46

S - D3 - BC001 - 004

ゴルジ体を用いたタンパク質分解機構 GOMED 誘導時のゴルジ体の微細構造変化

* 荒川 聡子 (東京医科歯科大学 統合研究機構 リサーチコアセンター)

09:46-10:07

S - D3 - BC001 - 005

企業講演 / Corporate Speech / 横河電機株式会社

* 岡田 寛之 (東京大学医学系研究科疾患生命工学センター臨床医工学)

10:07-10:22

S - D3 - BC001 - 006

エンドサイトーシス経路における初期 TGN 区画による積荷選別と Rab5 局在区画の形成機構

* 十島二郎 (東京理科大学 先進工学部), 長野真 (東京理科大学 先進工学部), 戸島拓郎 (理化学研究所 光量子工学研究センター), 中野明彦 (理化学研究所 光量子工学研究センター), 十島純子 (東京理科大学 先進工学部 | 東京工科大学 医療保健学部)

10:22-10:43

S - D3 - BC001 - 007

エンドソーム成熟を制御する新たな分子機構の解明

* 松井 貴英 (東北大学大学院 生命科学研究科 膜輸送機構解析分野 | 日本医科大学先端医学研究所 遺伝子制御学分野)

10:43-11:04

S - D3 - BC001 - 008

ゴルジ体時空間ダイナミクスの可視化解析

* 戸島 拓郎 (理化学研究所 光量子工学研究センター)

11:04-11:25

S - D3 - BC001 - 009

終わりに /Closing

11:25-11:30

植物細胞のゴルジ体形成ダイナミクスから見る小胞体 - ゴルジ体境界の保存性と多様性

* 伊藤 容子 (お茶の水女子大学 ヒューマンライフサイエンス研究所)

キーワード: 植物, ゴルジ体, 膜交通, ライブイメージング

ゴルジ体は、真核生物の細胞内膜交通において不可欠な役割を担うオルガネラであり、扁平な袋状の膜（槽）が複数重なった層板構造が最大の特徴である。この構造は真核生物全体に渡って保存されていることから、真核生物の共通祖先の段階で既に備わっていたと推測されているが、その形成機構についてはほとんど明らかになっていない。本研究では、明瞭な構造をとった個々のゴルジスタックが散在しているという、層板構造のライブイメージングに非常に適した植物細胞の利点を活かして、ゴルジ体の形成機構の解明を目指している。様々なゴルジ体局在タンパク質を用いてゴルジ槽を可視化した植物細胞株において、小胞体 - ゴルジ体間輸送の阻害剤である BFA を利用することでゴルジ体の消失・再形成を引き起こし、その過程におけるそれぞれの槽の挙動を解析したところ、シス槽のタンパク質のうちでも最もシス側に局在するものが、他のゴルジ体タンパク質とは異なる挙動を示すことが明らかになった。これらのタンパク質は BFA 処理を行うと未知のドット状構造に局在し、さらにこの構造が BFA 除去時には小胞体から他のゴルジ体タンパク質を受け取ることで層板構造再形成の足場となっていたのである。このことから、このドット状構造、さらにこの構造の元となるゴルジ体層板構造の最もシス側の槽を、Golgi Entry Core Compartment (GECCO) と名付けた。この GECCO は、脊椎動物でのみ観察され、植物細胞には存在しないとされてきた、小胞体 - ゴルジ体境界の中間区画である ERGIC に相当するもののではないかと考えられる。本シンポジウムでは、植物でのゴルジ体形成について紹介するとともに、真核生物全体での小胞体とゴルジ体の関係における共通性・多様性について考察する。

膜交通経路におけるタンパク質特異的な糖鎖修飾メカニズム

* 矢木 宏和 (名古屋市立大学大学院薬学研究所 | 自然科学研究機構生命創成探究センター), 加藤 晃一 (名古屋市立大学大学院薬学研究所 | 自然科学研究機構生命創成探究センター)

キーワード: ゴルジ体, 糖鎖修飾, 糖タンパク質, 膜交通経路

糖タンパク質の糖鎖修飾の主要なオルガネラであるゴルジ体は、形態観察を通じてシス、メディアル、トランスの3種類の槽から形成されているものと理解されてきた。しかし、ゴルジ体の形態は生物種によって大きく異なっており、しかも様々な時空間スケールでダイナミックに変化することが明らかとなりつつある。

糖鎖修飾の情報はゲノムに直接記されていないため、タンパク質を修飾する糖鎖の構造は予測困難であり、著しい不均一性を伴うことが一般的である。我々は、一見無秩序に進行するタンパク質の糖鎖修飾を規定するブループリントを読み解くことを目指して研究を行ってきた。特に、分泌経路において糖タンパク質の選別輸送を担うカーゴ受容体の構造生物学研究を行う過程で、カーゴタンパク質の中に書き込まれている分子暗号がカーゴ受容体に読み取られることによって膜交通におけるルートを規定するパスポートとして機能していることを見出している。さらに、これらのカーゴの糖鎖修飾に関わる糖転移酵素がトランスゴルジ槽の中で特定の区画に局在していることを突き止めている。さらには、分子暗号を他の糖タンパク質に組み込んで動物細胞で発現させると、分泌過程で特定の糖鎖修飾を受けられるようになることを示した。これらの知見は、一見無秩序に進行しているように見える糖タンパク質の糖鎖修飾が、ゴルジ体内で区画化された糖転移酵素の局在と分子暗号に指定された輸送ルートを通じて、制御されていることを示唆している。

本発表では、膜交通経路における糖転移酵素とカーゴ分子の出会いに着目したタンパク質特異的な糖鎖修飾メカニズムの最新の知見に関して報告する。

ゴルジ体を用いたタンパク質分解機構 GOMED 誘導時のゴルジ体の微細構造変化

* 荒川 聡子 (東京医科歯科大学 統合研究機構 リサーチコアセンター)

キーワード: ゴルジ体, GOMED, オートファジー, 分解, 電子顕微鏡

ゴルジ体は、小胞体を経由したタンパク質に糖鎖修飾などを行い、トランスゴルジネットワーク (TGN) から細胞膜や細胞外、ライソソームへのタンパク輸送を担っている。我々は、ゴルジ体での輸送が滞ると、それらのタンパク質を処理するために誘導される細胞機能を発見し、Golgi membrane-associated degradation (GOMED) と命名した (EMBO 2016, Nature Commun 2020)。

培養細胞 (MEF) では GOMED が誘導されると、核周囲を取り巻くように幅広く局在していたゴルジ体が、核から離れてミニスタック化して中心体を取り巻くようになる。その後、スタック構造をとって一体化していた cis, medial, trans 槽のうち、trans 槽のみが乖離して湾曲、球体化し、分泌顆粒を包み込んでいく。その後、ライソソームと融合することで、分泌タンパク質は処理される。

この GOMED 機構は酵母細胞の分泌が抑制された時のタンパク質顆粒の処理 (EMBO 2016)、また哺乳動物では、胎仔期における赤血球分化時のミトコンドリア除去 (Nature 2009)、膵臓 β 細胞のインスリン分泌抑制時のインスリン顆粒分解 (EMBO 2016)、小脳への鉄蓄積を抑制し脳神経系の恒常性維持に機能する (Nature Commun 2020)。本シンポジウムでは、GOMED 誘導時のゴルジ体の微細構造の特徴および変化について、それぞれの細胞で比較し、その共通点と差異について紹介する。

エンドサイトーシス経路における初期 TGN 区画による積荷選別と Rab5 局在区画の形成機構

* 十島二郎 (東京理科大学 先進工学部), 長野真 (東京理科大学 先進工学部), 戸島拓郎 (理化学研究所 光量子工学研究センター), 中野明彦 (理化学研究所 光量子工学研究センター), 十島純子 (東京理科大学 先進工学部 | 東京工科大学 医療保健学部)

キーワード: エンドサイトーシス, トランスゴルジ網, エンドソーム, Rab5, クラスリン

エンドサイトーシスは細胞膜の陥入により形成された膜小胞を介して、細胞外の物質や膜タンパク質を細胞内へと取り込む機構である。エンドサイトーシスにより細胞内に取り込まれた積荷は、まず選別区画へと輸送され、リソソーム / 液胞への分解経路もしくは細胞膜へのリサイクリング経路へ選別される。この選別区画は生物種により異なり、哺乳類細胞では独立した選別エンドソームであるのに対して、植物ではトランスゴルジ網 (TGN) がその役割を担っている。出芽酵母においても TGN が選別区画として働いていることが示されている一方、TGN とは異なる独立した選別区画の存在も示唆されてきた。TGN は新規合成されたタンパク質の細胞膜、もしくはリソソーム / 液胞への輸送経路への選別区画でもある。このため、TGN には合成経路とエンドサイトーシス経路の積荷が共に運び込まれ、選別されていると考えられるが、これらの選別機構については不明な点が多い。近年、超解像共焦点生細胞イメージングを用いた研究により、TGN は単一ではなく、幾つかの異なる区画により構成されていることが明らかになっている。最近、私達は初期 TGN の特定領域が積荷の選別区画として働いていることを見出した。この選別区画からリソソーム / 液胞への輸送には GGA クラスリンアダプタータンパク質が重要な役割を果たしており、さらにこの輸送経路は Rab5 GEF を介した Rab5 の活性化、およびそれに伴うエンドソーム区画の形成に必要である。興味深いことに、Rab5 局在エンドソーム区画の形成にはエンドサイトーシス経路は必須ではなく、TGN における PI (4)P や Rab11 によるクラスリン被覆である Epsin のリクルートが重要である。このような TGN を介した Rab5 の活性化は哺乳類細胞においても報告されており、生物種を越えた TGN によるエンドソームの形成機構が存在することが考えられる。

エンドソーム成熟を制御する新たな分子機構の解明

* 松井 貴英 (東北大学大学院 生命科学研究所 膜輸送機構解析分野 | 日本医科大学先端医学研究所 遺伝子制御学分野)

キーワード: エンドソーム, Rab

エンドソームは細胞膜からのエンドサイトーシスにより生じるオルガネラで、成熟することで、初期エンドソーム、後期エンドソーム、最終的にリソソームへと変化する。この一連の変化はエンドソーム成熟と呼ばれ、酵母からヒトまで全ての真核生物に保存された現象であり、取り込んだ物質の輸送や分解を担う細胞の生存に必須なプロセスである。この成熟過程の制御には、低分子量 G タンパク質 Rab を中心とした Rab5 → Mon1-Ccz1 複合体 → Rab7 というカスケードが関与することが広く知られている。エンドソーム成熟の円滑な進行には、初期エンドソーム上の Rab5 と後期エンドソーム上の Rab7 の厳密な活性化制御が不可欠であり、活性化型の Rab5 が Rab7 の活性化因子である Mon1-Ccz1 複合体と直接結合し、リクルートすることで、エンドソーム膜上で Rab7 を活性化する機構が提唱されている。

一方で、初期エンドソーム上の Rab5 はエンドソーム成熟の進行に伴い、不活性化されると想定されるが、その重要性や不活性化機構に関しては、実行因子も含めほぼ未解明である。我々は最近、Mon1 ノックアウト細胞の解析から、Mon1 を欠損すると Rab7 の活性化不全に加えて Rab5 の異常な活性化が起こり、その結果として、エンドソーム成熟が著しく損なわれることを見出した。次に、この Rab5 の過剰な活性化に関わる因子を探したところ、エンドソーム成熟過程で働く、新規の Rab5 不活性化因子として未だ機能未知の TBC1D18 を同定することに成功した。TBC1D18 と Mon1 の間には細胞内で相互作用が確認されたことから、これら 2 種類の異なる Rab 活性制御因子が協調的に働くことで、エンドソーム成熟が制御されている可能性が強く示唆された。本発表では、TBC1D18 を含めた最新のエンドソーム成熟モデルを紹介したい。

ゴルジ体時空間ダイナミクスの可視化解析

* 戸島 拓郎 (理化学研究所 光量子工学研究センター)

キーワード: ゴルジ体, ERGIC, TGN, 槽成熟, ライブイメージング

ゴルジ体は、膜/分泌タンパク質の翻訳後修飾や選別輸送を担う重要な膜交通のキーステーションである。ゴルジ体はシス、メディアル、トランス、トランスゴルジ網 (TGN) といった複数の槽から構成されており、小胞体で新規合成された積荷タンパク質は、シス槽から取り込まれた後、メディアル槽、トランス槽を経由し、最終的に TGN から各目的地へ向けて選別配送される。このゴルジ内積荷移動のメカニズムとして、槽が積荷を保持したまま徐々にその性質を変えてゆく「槽成熟」と呼ばれる現象が観察されているが、単一の槽内において、積荷の受取り、糖鎖修飾、搬出といったような多彩な機能がどのように入れ替わるのか、その詳細な過程については不明の点が多い。また、槽成熟の開始地点であるシス槽がどこからどのように形成されるのかについてもよく分かっていない。

本研究では、出芽酵母 *S. cerevisiae* における 20 種類以上のゴルジ体関連タンパク質群の時空間動態を、我々が開発した高速超解像共焦点レーザー顕微鏡 SCLIM により観察した。その結果、シス槽は小胞体-ゴルジ体中間区画 (ERGIC) が徐々に成熟することで生まれることが示された。また、シストランス槽にかけては、COPI 被覆タンパク質や各種糖転移酵素といった様々な機能分子群が個別のタイミングで出現・消失し、その後これらは TGN 常在タンパク質群へと徐々に入れ替わった。重要なことに、成熟過程の槽内では、前後の画分を構成する分子が空間的に区別されていた。

以上のような時空間解析から、ゴルジ体が時間と共にその性質を変えてゆく非常に動的なオルガネラであることが明らかになってきた。本シンポジウムでは、動物細胞のゴルジ体の SCLIM 像もご覧いただき、生物種を跨いだゴルジ体機能・構造の保存性と多様性について議論したい。

環境を感じる細胞

2023/6/30 09:00 ~ 11:30 | D会場

座長：森田（寺尾）美代（自然科学研究機構 基礎生物学研究所）、東山哲也（東京大学大学院理学系研究科）

国際先導研究「植物生殖の鍵分子ネットワーク」

多細胞生物において、特定の細胞が特定の細胞外の情報、つまり環境情報を感じ取る。この時、それらの細胞で何が起きているのだろうか。この長年の細胞生物学の命題に対して、様々な細胞系で新たな展開が見られている。本シンポジウムでは、がん細胞の酸化ストレス防御、線虫の行動を引き起こす刺激と神経活動、植物の重力屈性、花粉管の長距離に渡る誘導など、動植物の様々な興味深い細胞システムにおける最新の知見を楽しみたい。

S - D3 - D001 - 001

雌しべ内で精密な多段階方向制御と受精能制御を受ける花粉管細胞

* 東山 哲也 (東大・理・生物科学)

09:00-09:25

S - D3 - D001 - 002

一遺伝子一項説：匂い受容細胞の経験依存的活動変化の数理モデルと遺伝子との対応

* 木村 幸太郎 (名古屋市立大学大学院理学研究科), 池尻 洋輔 (大阪大学大学院理学研究科)

09:25-09:50

S - D3 - D001 - 003

“Kick-me-out” シグナル、FGF21 の発現誘導を介したがん抑制型細胞競合の分子機構の解明

* 小川基行 (東京大学大学院薬学系研究科細胞情報学教室), 名黒功 (東京大学大学院薬学系研究科細胞情報学教室), 一條秀憲 (東京大学大学院薬学系研究科細胞情報学教室)

09:50-10:05

S - D3 - D001 - 004

Mahjong-COP9 複合体による細胞密度依存的なタンパク質合成の制御機構

* 白土 尚香 (京都大学大学院 医学研究科 分子腫瘍学分野), 江上 陸 (北海道大学 遺伝子病制御研究所 分子腫瘍分野), 小澤 慶 (京都大学大学院 医学研究科 分子腫瘍学分野), 藤田 恭之 (京都大学大学院 医学研究科 分子腫瘍学分野)

10:05-10:20

S - D3 - D001 - 005

植物の重力屈性における重力感受機構

* 森田(寺尾)美代 (基生研), 西村岳志 (基生研), 森祥伍 (基生研), 四方明格 (基生研), 阿部純明 (埼玉大・院・理工), 萩原拓真 (埼玉大・院・理工), 豊田正嗣 (埼玉大・院・理工), 吉川洋史 (大阪大・院・工), 檜垣匠 (熊本大・院・先端科学)

10:20-10:45

S - D3 - D001 - 006

レドックス制御を介した小胞体ストレスセンサー ATF6 活性化機構の解明

* 和田 匠太 (京都産業大学大学院 生命科学研究科 生命科学専攻), 永田 和宏 (JT 生命誌研究館), 潮田 亮 (京都産業大学大学院 生命科学研究科 生命科学専攻 | 京都産業大学タンパク質動態研究所)

10:45-11:00

S - D3 - D001 - 007

がん酸化ストレス防御

* 高橋 重成 (京都大学 白眉センター)

11:00-11:25

S - D3 - D001 - 008

終わりに /Closing

11:25-11:30

雌しべ内で精密な多段階方向制御と受精能制御を受ける花粉管細胞

* 東山 哲也 (東大・理・生物科学)

キーワード: 細胞間シグナル, 方向性制, 受容体, 花粉管, 受精

花を咲かせる植物は、種子のもとになる組織（胚珠;はいしゅ）を包み込み、雌しべをつくるようになった。これにより種子を包む果実が生まれた。様々な利点をもたらされた一方で、花粉は、胚珠やそのなかの卵細胞に到達するために複雑な制御を受けることになった。花粉は直径数十マイクロメートルで、そこから伸びだす花粉管細胞は直径約十マイクロメートルである。その先端が、植物種にもよるが、数ミリメートルから数センチメートル離れた位置にある卵の位置まで正確に到達し、内部の精細胞を送り届ける。最近の研究で、花粉管の先端は自身が現在どこにあり、どの方向に進むべきで、いつ受精能を獲得すべきかなど、正確に環境を把握していることが明らかとなってきた。雌しべのそれぞれの組織から与えられる分子群を、伸長を続ける花粉管が次々に受容し、正確に応答する。シグナル分子や受容体のレベルで、どこまで理解が進んでいるか紹介したい。

一遺伝子一項説：匂い受容細胞の経験依存的活動変化の数理モデルと遺伝子との対応

* 木村 幸太郎 (名古屋市立大学大学院理学研究科), 池尻 洋輔 (大阪大学大学院理学研究科)

キーワード: 匂い刺激, カルシウムイメージング, 数理モデル, 神経細胞

環境からの刺激に対する細胞の応答は、刺激を経験することによって変化することがある。しかし細胞の応答パターンやその変化の「意味」を理解することは、多くの場合困難である。我々は、モデル動物・線虫 *C. elegans* が匂い応答行動中に感ずる匂い濃度変化を厳密に測定し、この匂い濃度変化を顕微鏡下でのカルシウムイメージング中に再現することによって、匂い受容細胞 ASH の細胞内カルシウム動態を数理モデル化した。その結果、(1) 匂い刺激を初めて受ける ASH 細胞は、わずかな匂い濃度上昇にも大きな匂い濃度上昇にも同様に大きく反応すること、(2) この反応は匂い濃度の 1 階微分と 2 階微分の漏れ積分の和として正確にモデル化できること、(3) 匂いを一度経験しておく ASH ニューロンはわずかな匂い濃度上昇には反応しないが大きな匂い濃度上昇には大きく反応する「ゲイン調節」を示すこと、(4) このゲイン調節は効率的な匂い応答行動に関連すること、(5) ゲイン調節は「2 階微分項の消失」のみによって説明できること、(6) 2 階微分項の消失は G 蛋白シグナル伝達への制御によると遺伝学的に考えられること、などを明らかにした。さらに、本研究におけるカルシウムイメージング・数理モデル・遺伝学的解析の融合により、適切な数理モデルは項 1 つ 1 つが遺伝子機能に対応し、ダイナミックな生命現象の制御メカニズムに対する明快な仮説を与えることが示された。Ref: (1) Tanimoto et al., eLife 2017, (2) Ikejiri et al., Neurosci Res 2022.

“Kick-me-out” シグナル、FGF21 の発現誘導を介したがん抑制型細胞競合の分子機構の解明

* 小川基行 (東京大学大学院薬学系研究科細胞情報学教室), 名黒功 (東京大学大学院薬学系研究科細胞情報学教室), 一條秀憲 (東京大学大学院薬学系研究科細胞情報学教室)

キーワード: 細胞競合, 細胞死, FGF21, NOS3, S- ニトロシル化

近年、生体内に生じた異常細胞やがん変異細胞が細胞競合により組織から選択的に排除されることが示されている。例えばショウジョウバエにおいて、細胞極性を制御するがん抑制因子 Scribble を欠損した細胞は過剰に増殖して腫瘍を形成するが、正常細胞に囲まれると細胞競合により排除される。こうしたがん抑制型細胞競合は、主にショウジョウバエを用いた遺伝学的解析により分子機構が解明されてきたが、哺乳類ではほとんど未解明である。最近我々は、哺乳類細胞を用いて線維芽細胞増殖因子 FGF21 がこの細胞競合を誘導することを発見した。FGF21 は Scribble 欠損細胞から分泌され、正常細胞の FGFR1 を介して細胞競合を誘導した。正常細胞群と Scribble 欠損細胞群を対峙させ接触させると、Scribble 欠損細胞群が FGF21 依存的に正常細胞群に物理的に圧迫され排除された。FGF21 過剰発現細胞が正常細胞を誘引したことから、FGF21 が正常細胞を誘引することで Scribble 欠損細胞が圧迫され排除される可能性が示された。また、一酸化窒素 (NO) 産生酵素 NOS3 が産生する NO が ASK1 を S- ニトロシル (SNO) 化修飾により活性化して FGF21 を発現誘導することを見出した。Scribble 欠損により NOS3 が細胞膜から細胞質へと局在変化することで、ASK1 と結合して選択的に SNO 化修飾していた。AKT1 によるリン酸化が NOS3 の局在変化に必要であった。現在、マウスレベルの細胞競合解析系を新たに構築し、FGF21 による細胞競合が生体内でがん抑制機構として働くか検証している。以上から、細胞競合で排除される細胞が提示する “kick-me-out” シグナル、FGF21 を発見するとともに、血管拡張や細胞死誘導等に働く NO の新たな機能として、FGF21 を介した細胞間の競合的コミュニケーションを見出した。

Mahjong-COP9 複合体による細胞密度依存的なタンパク質合成の制御機構

* 白土 尚香 (京都大学大学院 医学研究科 分子腫瘍学分野), 江上 陸 (北海道大学 遺伝子病制御研究所 分子腫瘍学分野), 小澤 慶 (京都大学大学院 医学研究科 分子腫瘍学分野), 藤田 恭之 (京都大学大学院 医学研究科 分子腫瘍学分野)

キーワード: 細胞密度, タンパク質合成, リボソームタンパク質

多細胞生物において、細胞間コミュニケーションによる上皮組織の恒常性維持機構は個体生存に不可欠である。例えば、正常な組織では細胞密度が高くなると、恒常性維持機構によりタンパク質合成を抑制することで正常な単層細胞層が維持される。しかし、細胞密度の増加という刺激がどのようにタンパク質合成能を変化させるのかという分子機構は明らかでない。予備実験において、細胞密度依存的に制御される因子として Mahjong を同定した。低細胞密度では Mahjong の発現量は高く、主に核に局在しているのに対して、細胞密度が高くなるとその発現量が低下し核局在も顕著に減少した。また、Mahjong と結合する COP9 シグナロソームも細胞密度依存的に制御され、Mahjong を安定化することも明らかにした。そこで、本研究では Mahjong-COP9 複合体に着目し細胞密度依存的なタンパク質合成制御機構の解析を行った。その結果、Mahjong および COP9 の発現量はタンパク質合成に重要であり、これらのノックダウンによりタンパク質合成が抑制されることも明らかにした。興味深いことに、Mahjong-COP9 複合体によるタンパク質合成の制御は、最もよく知られるタンパク質合成制御機構である mTOR 経路非依存的であることが示唆された。そこで、Mahjong-COP9 複合体がタンパク質合成を制御する詳細機構を検討した。その結果、これらはタンパク質合成において中心として働くリボソームの構成因子であるリボソームタンパク質の量を制御することが明らかになった。現在は、これらの因子がリボソームタンパク質をはじめとしたタンパク質合成の様々な制御因子をどのように調節するかについて検証している。

植物の重力屈性における重力感受機構

* 森田 (寺尾) 美代 (基生研), 西村岳志 (基生研), 森祥伍 (基生研), 四方明格 (基生研), 阿部純明 (埼玉大・院・理工), 萩原拓真 (埼玉大・院・理工), 豊田正嗣 (埼玉大・院・理工), 吉川洋史 (大阪大・院・工), 檜垣匠 (熊本大・院・先端科学)

キーワード: 重力屈性, シロイヌナズナ, 重力感受, 平衡石, オルガネラ

重力屈性は、植物が重力を感知して根を水や栄養分が豊富な地中へ、地上部を光合成や生殖に有利な上方へ成長する性質である。重力刺激 (器官の傾き) に応じて植物ホルモンであるオーキシンが器官内に偏差分配されることにより屈曲が起こる。

1g の重力の下で進化してきた動植物は、特殊な組織や細胞にある平衡石を利用して重力方向を感知する。重力屈性において植物は、特殊な細胞の中に存在するオルガネラを平衡石として利用する。種子植物では、デンプンを高度に蓄積した色素体の一種 (アミロプラスト) が平衡石として働く。

シロイヌナズナの根では、PIN family タンパク質に代表されるオーキシン輸送体の発現部位や極性局在などから、根端組織内でのオーキシン流路が予測されている。根が傾き重力刺激が加わると、重力感受細胞であるコルメラ細胞内でアミロプラストが新たな重力方向へ移動する。これにより重力を感知し、コルメラ細胞内で発現するオーキシン排出輸送体 PIN3 や PIN7 を重力側の細胞膜に極性配置することで、重力側へオーキシンをより多く分配するというモデルが広く受け入れられている。一方で、重力感受細胞がアミロプラストの移動を検出しその情報を PIN の極性配置へと変換する、重力感知・情報伝達の機構は不明な点が多い。

我々は、コルメラ細胞で機能する植物特有の機能未知タンパク質 LZY が、重力側の細胞膜に極性局在し、その極性が重力刺激に応答して変化することを見出した。また、LZY の相互作用因子 RLD が膜交通制御を介して PIN の細胞内局在制御に関わること、コルメラ細胞において RLD は LZY 依存的に重力側の細胞膜にリクルートされることを明らかにし、LZY-RLD 複合体をコアとした重力情報伝達モデルを提案した。本大会では、最近アミロプラストの位置情報が細胞膜上の LZY 極性に反映されるメカニズムについて知見を得たので紹介する。

レドックス制御を介した小胞体ストレスセンサー ATF6 活性化機構の解明

* 和田 匠太 (京都産業大学大学院 生命科学研究所 生命科学専攻), 永田 和宏 (JT 生命誌研究館), 潮田 亮 (京都産業大学大学院 生命科学研究所 生命科学専攻 | 京都産業大学タンパク質動態研究所)

キーワード: タンパク質品質管理機構, 小胞体ストレス応答, レドックス, 小胞体, ATF6

小胞体では、様々な分子シャペロンや酸化還元酵素によって分泌・膜タンパク質のフォールディングが介助され、正しい立体構造を獲得したタンパク質はゴルジ体へと輸送され、分泌される。しかし、細胞内環境の変化や遺伝的変異により、フォールディングに失敗したタンパク質（構造異常タンパク質）は小胞体に蓄積し、小胞体ストレスを引き起こす。継続的な小胞体ストレスは細胞死を惹起し、アルツハイマー病に代表される神経変性疾患や糖尿病、心疾患などの重篤な病気の原因となることが知られている。細胞は小胞体ストレスからの防御機構として小胞体ストレス応答を備えており、小胞体ストレスを感知するセンサータンパク質が小胞体膜上に存在する。各センサータンパク質がストレスに応じて下流にシグナルを伝えることで、翻訳の抑制や分子シャペロンの発現誘導、小胞体関連分解の促進などの防御機構を誘導し、小胞体内腔のプロテオスタシスを維持している。

小胞体ストレスセンサータンパク質の1つであるATF6は、定常的に分子シャペロンBiPと結合し、小胞体内腔でジスルフィド結合を形成し、不活性型を維持している。小胞体ストレスが起こると、ATF6は小胞体からゴルジ体へ輸送され、輸送されたATF6のサイトゾルドメイン（Nドメイン）は、ゴルジ体に局在するプロテアーゼであるS1PおよびS2Pにより切断を受け、切断されたNドメインが核へ移行し、分子シャペロンや酸化酵素群の転写因子として機能する。しかし、どのようにATF6の活性化が制御されているのか、その詳細な分子メカニズムは未だ明らかにされていない。

今回、我々はATF6のレドックス制御に着目し、ATF6の新たな活性化機構を紹介する。

がん酸化ストレス防御

* 高橋 重成 (京都大学 白眉センター)

キーワード: 酸化ストレス, イメージング, がん

がん細胞は通常の居場所（niche）を逸脱し増殖・生存する特性上、酸化ストレスの原因物質である活性酸素種に高いレベルでさらされている。即ち、がん細胞の生存にとって酸化ストレス防御能は必要不可欠な機能であるといえる（Takahashi N et al, *Cancer Cell* 2018; *Mol Cell* 2020）。実際、プラチナ製剤や放射線治療を含むがん治療法の多くは活性酸素種のレベルを上げることでがん細胞を選択的に死滅させるものであり、基本的ながん細胞は生きるか・死ぬかの瀬戸際の酸化状態で生きていると言える。しかし、このようながんにおける酸化ストレスの枢要性に反し、腫瘍内で本当に活性酸素種のレベルが上がっているのか？また腫瘍内の特にどこで上がっているのか？等、根本的な事柄が実は未だに明らかにされていない状況である。今回、我々は活性酸素種の代表的存在であるH₂O₂を腫瘍1細胞レベルで可視化する技術を開発した。本開発により、腫瘍内活性酸素種の不均一性を世界に先駆けて明らかにしたのみならず、がん細胞が有する新規酸化ストレス防御機構を見出した。本講演では、腫瘍内H₂O₂イメージングおよびそれにより明らかになった、がん細胞が有するユニークな酸化ストレス適応戦略を紹介したい。

男女共同参画

2023/6/30 12:15 ~ 13:15 | A 会場

座長：大澤 志津江 (名古屋大)、佐藤 あやの (岡山大)

学術変革 (A) マテリアルシンバイシスのための生命物理化学

12:15-12:45 (2023-06-30 12:15 - 13:15 | A 会場)

L - D3 - A001 - 001

研究者多様性保全の途上にあるアカデミアで、私たちはどう生きるか？

* 天野 麻穂 (北海道大学大学院医学研究院細胞生理学教室)

キーワード：ダイバーシティ, 女性研究者, スタートアップ

はじめまして。私は URA からの出戻り女性研究者で、北大初の「代表取締役兼業正規教員」です。さて、みなさんはアカデミア研究者の「多様性」と聞いて、何を思い浮かべるでしょうか。直観的には「多様性＝さまざまなマイノリティ」、すなわち、外国人や女性の研究者、育児と研究を両立させているイクメン研究者、などを考えつく方が多いかもしれません。マイノリティ＝マジョリティではない(＝語弊があるかもしれませんが「集団の『標準』から外れている」)存在としては、現在の我が国のアカデミアでは「起業家研究者」も、多様性をかたちづくる一員と言えるでしょう。社会全体がダイバーシティ推進を掲げ、政府が昨年を「スタートアップ創出元年」と定め、大学も支援策を拡充しているはずなのに、まだまだ不便や不利を感じる場面が減らないのが現状と思います。私たちが一人もとりこぼされることなく、健康でやりがいのある研究者生活を送るには、どうしたら良いでしょうか。このセミナーで、みなさんと一緒に考えていけたらと思います。

12:45-13:15 (2023-06-30 12:15 - 13:15 | A 会場)

L - D3 - A001 - 002

ドイツで4人の子どもの育てながら感じたこと

* 中野 亮平 (北海道大学理学部)

キーワード：海外育児

2003年から京都大学で学生時代を過ごした後、ガラッと分野を変えてポスドクとしてドイツにやってきたのが2013年。それから10年間ケルンでコツコツと研究を続けました。渡独してすぐに生まれた長女はもう9歳になり、さらに6歳の長男と3歳の双子の次男と三男と4人の子どもの恵まれました。親や親戚のサポートもなく、ほとんど言葉も通じない(特に役所や幼稚園)環境で育児に振り回されながら、しっかり研究をやって公募戦線で激戦を繰り広げるといってはなかなかタフな経験でした。家庭と仕事、どうバランス取ってるの?と聞かれても、バランスなんか取れてませんとしか答えようがない世界の中で、とにかく日々のやるべきこと/やれることをこなしていく。それをなんとか乗り越えて職を得ることができたのは、ドイツの「家庭を大事にする風土」というものも大きかったのかもしれない。海外で育児と研究をやって感じたこと、そこから日本に帰ってきて感じていること、その中で自分が学生を指導する立場としてなにができるのか、アカデミアから始まるキャリアパスはどうあるべきなのか、色々に頭を駆け回る思いを短い時間で少しでも言葉にしつつ、皆さんと一緒に未来を描いてみたいと思います。

サーモフィッシャーサイエンティフィック

12:15-13:15 (2023-06-30 12:15 - 13:15 | D会場)

L - D3 - D001 - 001

光・電子相関顕微鏡法で細胞のダイナミクスを可視化する

* 大塚 正太郎 (マックスペルーツ研究所)

キーワード: 核膜, 核膜孔複合体, 小胞体, 定量的生細胞イメージング, 光・電子相関顕微鏡法

2014年には超解像顕微鏡法が、2017年にはクライオ電子顕微鏡法がノーベル賞を受賞したように、顕微鏡の観察技術は著しく向上している。しかしながら、光学顕微鏡ではまだ空間分解能に限度があり、電子顕微鏡では空間分解能は高いがその観察には試料を固定しなければならない、というジレンマがある。近年、同じ試料を光学顕微鏡、電子顕微鏡両方で観察する技術、光・電子相関顕微鏡法の進歩により細胞や組織のダイナミクスを高時間分解能かつ高空間分解能で観察できるようになってきている。本発表では、定量的生細胞イメージングと3次元電子顕微鏡法を組み合わせることで細胞核の形成過程を1分間隔かつナノメートルでのスケールで可視化し、主に核膜と核膜孔複合体の形成機構について得られた知見を議論したい。

座長：Tatsuo Fukagawa (Osaka University)

13:30-14:30 (2023-06-30 13:30 - 14:30 | BC 会場)

PL - D3 - BC001 - 001

piRNAs protect the germline genome from transposon invasion

* Mikiko C. SIOMI (Graduate School of Science, The University of Tokyo)

キーワード：Transposon, piRNA, germline genome

For organisms with sexual reproduction, it is extremely important to stably maintain the germline genome that transfer genetic information to the next generation. PIWI-interacting RNAs (piRNAs), a subset of small non-coding RNAs, maintain genome stability in the germ cells and their surrounding somatic cells by repressing invasive transposons. The importance of the piRNA pathway is evidenced by the fact that without the function of piRNAs, the organism would become infertile. We are investigating the molecular mechanisms of the piRNA pathway using cultured *Drosophila* ovary-derived somatic cells, OSCs, and *Bombyx* ovary-derived germ cells, BmN4 cells. In my talk, I will present the latest findings of piRNA research in our laboratory.

Mechano-chemical crosstalk at the luminal interface

2023/6/30 16:25 ~ 18:55 | A 会場

座長 : Takafumi Ichikawa (Kyoto Univ.), Asako Shindo (Kumamoto Univ.)

AIRIX Corp., Transformative Research Areas (A) [Mechanical Self-Transformation of Living Systems]

A tubular structure is ubiquitously found in animal organs, consisting of cells and a lumen inside, filled with fluid crucial for organ function. While the molecular machinery of lumen formation is well studied, it remains poorly understood about physical mechanisms that underlie lumen structures. This symposium defines lumen development as a self-organizing transformation led by multiple feedbacks between forces and biochemical reactions at the cell-lumen interface. We aim to understand the design principles of luminal systems by discussing studies targeting various tissues.

S - D3 - A002 - 001

企業講演 / Corporate Speech / AIRIX Corp.

* Yasuhiro Nishimura (AIRIX corp.)

16:25-16:40

S - D3 - A002 - 002

始めに /Introduction

16:40-16:42

S - D3 - A002 - 003

Tissue pattern emergence and lumen formation through the boundary-driven ordering

* Takafumi Ichikawa (Institute for the Advanced Study of Human Biology (ASHBi), Kyoto University), Pamela Guruciaga (European Molecular Biology Laboratory (EMBL), Germany), Anna Erzberger (European Molecular Biology Laboratory (EMBL), Germany), Takashi Hiiragi (Hubrecht Institute, The Netherlands)

16:42-17:08

S - D3 - A002 - 004

Bidirectional flow forces instruct endocardial cell identity for the cardiac lumen morphogenesis

* Hajime Fukui (National Cerebral and Cardiovascular Center)

17:08-17:34

S - D3 - A002 - 005

Mechanics of blood vessel lumenization and remodelling

* Li-Kun Phng (RIKEN Center for Biosystems Dynamics Research)

17:34-18:00

S - D3 - A002 - 006

PIEZO1-mediated mechanosensing regulates the fate of neural progenitor cells in cerebral development

* Mayumi Okamoto (Graduate School of Medicine, Nagoya University)

18:00-18:26

S - D3 - A002 - 007

Multi-lumina organization during thyroid morphogenesis

* Asako Shindo (Kumamoto University)

18:26-18:52

S - D3 - A002 - 008

終わりに /Closing

18:52-18:55

Tissue pattern emergence and lumen formation through the boundary-driven ordering

* Takafumi Ichikawa (Institute for the Advanced Study of Human Biology (ASHBi), Kyoto University), Pamela Guruciaga (European Molecular Biology Laboratory (EMBL), Germany), Anna Erzberger (European Molecular Biology Laboratory (EMBL), Germany), Takashi Hiiragi (Hubrecht Institute, The Netherlands)

キーワード : tissue patterning, lumen formation, mouse epiblast, boundary-driven ordering, apico-basal polarization

Multi-cellular living systems exhibit self-organizing properties and entail feedback regulations between molecular, cellular, and tissue-level signals to achieve a functional pattern, such as an epithelial tubular structure. We aim to understand the principles of pattern emergence using mouse peri-implantation epiblast, which develops into a cup-shaped structure with a lumen inside and eventually gives rise to our body, as a model. To this end, we established a 3D ex vivo system that offers unprecedented access to the embryos for monitoring, measurement, and manipulation. We revealed coordinated dynamics between epiblast cell alignment, polarization and basement membrane formation, suggesting a possible role for cell anchoring to the extracellular matrix in epiblast patterning. We then developed a theory accounting for the patterning, based on the Landau-de Gennes approach to boundary-driven ordering phenomena in liquid crystals. Our theoretical framework can predict not only the pattern under different conditions, which was tested by genetic perturbation and embryo manipulation, but also topological defects, which may represent regions where the apical side of cells meets and thus forms micro-lumina. Our work highlights the role of the tissue boundary in tissue pattern and lumen formation.

Bidirectional flow forces instruct endocardial cell identity for the cardiac lumen morphogenesis

* Hajime Fukui (National Cerebral and Cardiovascular Center)

キーワード : zebrafish, mechanical signal, heart morphogenesis

Developing cardiovascular systems use mechanical forces, such as fluid shear force, pressure, and contractile forces, at all organizational scales to shape tissue. We recently identified that the force-dependent bioelectric signaling (Ca^{2+} -Nfat signaling) with the exclusive timing and localization in endocardial cells (EdCs) of the atrio-ventricular canal (AVC), the cells covering the cardiac lumen of region in between the atrium and the ventricle, is indispensable for the primary cardiac valve morphogenesis in zebrafish. Although any EdCs have a potential to activate the signaling determined by mechanical forces manipulation, the mechanosensitive mechanisms by which the continuous forces control the spatiotemporal Ca^{2+} -Nfat signaling during valve morphogenesis remains unclear.

In the early process of heart morphogenesis, blood flow in the AVC transits from bidirectional to unidirectional flow, which depends on the functional structures of the primary valve leaflet. We found that the bidirectional flow, but not the unidirectional flow, has an influence on the forces-dependent signal activation. We then developed a novel approach which enable us to manipulate the bidirectional flow in the heart, and the forces-dependent Ca^{2+} influxes are altered even after the functional primary valve is formed. Together, these results suggest that the bidirectional flow forces directly activate the bioelectric signaling via mechanical sensor (s) in the membrane of EdCs to provide a robust regulation for the heart development.

Mechanics of blood vessel lumenization and remodelling

* Li-Kun Phng (RIKEN Center for Biosystems Dynamics Research)

キーワード : Endothelial cells, Mechanoresponse, Blood pressure, Actin remodelling, Myosin dynamics

The optimal distribution of blood to tissues requires the generation of well-patterned, hierarchically organized blood vessels of optimal diameter. How endothelial cells (ECs) behave and respond to haemodynamic forces to control lumenization, vessel morphology and vessel diameter are incompletely understood. By investigating the intersegmental vessels of the zebrafish embryo, we discovered that ECs utilize actomyosin cytoskeleton to control different cellular behaviours at different stages of blood vessel morphogenesis.

Initially, during the process of lumenization, ECs adapt to elevating blood pressure by fortifying the cell cortex with increased assembly of actomyosin cytoskeleton and by generating a balance network of linear and branched actin bundles. The failure of ECs to resist the deforming forces of blood pressure results in ectopic membrane blebbing, cell shape changes and vessel malformation in the zebrafish embryo.

After blood vessels become perfused, they undergo remodelling where vessels constrict to generate narrower tubes. This is mediated by a decrease in EC size and shortening of the EC. High-resolution image analysis revealed a transition in cortical actin cytoskeleton during the period of constriction, suggesting that actin remodelling may drive cell shape changes underlying vessel constriction. In addition, we observed dynamic oscillations in non-muscle myosin II in the cell cortex as indicated by fluctuations in the intensity of myosin light chain 9b (myl9b). Interestingly, a local increase in myl9b intensity correlates with a decrease in vessel diameter. When myosin II activity is decreased, the extent of vessel constriction is reduced. Collectively, our studies demonstrate the diverse functions of actin cytoskeleton and myosin II activity in controlling EC mechanics and vessel morphogenesis.

PIEZO1-mediated mechanosensing regulates the fate of neural progenitor cells in cerebral development

* Mayumi Okamoto (Graduate School of Medicine, Nagoya University)

キーワード : neural progenitor cells, cerebral development, PIEZO1

Mechanical stimuli control a variety of biological functions, including development and homeostasis. Cerebral wall is composed of highly dense and dynamic neural progenitor cells, and various types of mechanical force are expected to be present there. In this study, we focused on PIEZO1, a mechanosensor channel involved in force sensing and response, and we found that PIEZO1 is expressed at the apical endfeet of neural progenitor cells. To ask the importance of PIEZO1 in cerebral development, we generated and analyzed neural progenitor-specific *Piezo1* conditional knockout mice. *Piezo1*-deficient mice showed enlargement of the cerebral ventricle and reduction of the ventricular zone at the embryonic stage. Analysis of *Piezo1*-deficient mice suggests that PIEZO1 functions in (i) the control of the ventricular surface contractility and (ii) the control of cell production in neural progenitor cells during cerebral development.

Multi-lumina organization during thyroid morphogenesis

* Asako Shindo (Kumamoto University)

キーワード : thyroid, multi-lumina, *Xenopus laevis*, morphogenesis

The thyroid is composed of multiple follicles, and the spherical and luminal structure of the follicle is well known to be essential for the endocrine function of the thyroid. While a cyst, single spherical tissue with a single lumen, has been studied as a model of cell polarization and lumen formation, the mechanisms by which follicles, multi-cysts-like tissues, are formed remain unknown. We explore the mechanism of the multi-follicle formation using *Xenopus laevis*, a model animal commonly used in developmental biology. We found that follicle formation begins with feeding, suggesting that follicle formation is a nutritional-controlled process. In the absence of feeding, follicle formation is in a state of arrest and resumes when feeding is initiated. We took advantage of this phenomenon to perform 3D image analyses and gene expression profiling and found that feeding reduces cell adhesion molecules and increases extracellular matrix (ECM) in the thyroid. Interestingly, inhibiting cell adhesion or increasing ECM in unfed tadpoles promotes thyroid follicle formation without feeding. Furthermore, live imaging of the developing thyroid reveals that cells and lumina actively move after feeding. These results suggest that regulations of cell adhesion and ECM by nutrients enable cells and lumina to move and form multiple follicles. In this talk, I will introduce the behavior of cells and lumina in the developing thyroid and discuss the molecular mechanisms underlying the formation of multi-luminal tissue.

寄生性原虫の細胞生物学から発信する新しい細胞機能研究

2023/6/30 16:25 ~ 19:05 | B会場

座長：二瓶浩一（微生物化学研究所）、津久井久美子（国立感染症研究所）

ベクタービルダー

寄生性原虫は宿主の細胞機能を巧みに使い宿主に侵入、その体内や細胞内で生存・増殖する。また原虫自身も寄生生活に適応した進化を遂げている。形態や動きの違いから、特異な現象が起きた生物といった印象を与えるが、ほとんどの制御分子は広く真核細胞に保存しており、多くの共通項も見いだされる。寄生現象の一端を細胞生物学から紐解き、新たな生体・オルガネラ制御機構について議論したい。

S - D3 - B001 - 001

始めに /Introduction

16:25-16:28

S - D3 - B001 - 002

企業講演 / Corporate Speech / ベクタービルダー

* 赤勝 実穂 (ベクタービルダー)

16:28-16:44

S - D3 - B001 - 003

マラリア原虫の宿主細胞侵入メカニズム

* 矢幡 一英 (愛媛大学プロテオサイエンスセンター寄生病原体学部門)

16:44-17:02

S - D3 - B001 - 004

トキソプラズマ原虫に対する宿主セルオートノマス免疫系とその破綻

* 山本 雅裕 (大阪大学 微生物病研究所 感染病態分野)

17:02-17:20

S - D3 - B001 - 005

寄生性原虫から見出されるオートファジー関連因子の不可解な進化

* 坂本 寛和 (千葉大学大学院医学研究院・感染生体防御学)

17:20-17:38

S - D3 - B001 - 006

Functional analysis of the membrane protein TSPAN4 in *Entamoeba histolytica*

* Han Jiang (Department of Biomedical Chemistry, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo), Herbert J. Santos (Department of Biomedical Chemistry, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo), Tomoyoshi Nozaki (Department of Biomedical Chemistry, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo)

17:38-17:51

S - D3 - B001 - 007

アフリカトリパノソーマにおける糖鎖修飾とタンパク質輸送

* 中西 雅之 (松山大学薬学部生化学研究室)

17:51-18:09

S - D3 - B001 - 008

寄生性原虫赤痢アメーバが肝膿瘍形成に必要とするトランスゴルジ輸送

* 中野 由美子 (国立感染症研究所), 牧内 貴志 (東海大学), 柘倉 麻美 (国立感染症研究所), 津久井 久美子 (国立感染症研究所), Carol A. Gilchrist (米国バージニア大学), William A. Petri Jr (米国バージニア大学), 野崎 智義 (東京大学)

18:09-18:27

S - D3 - B001 - 009

赤痢アメーバの小胞輸送を制御するレトロマー複合体の機能分化：2種のVps35アイソタイプの機能解析

* 渡邊 菜月 (東京大学大学院 医学系研究科 生物医化学), 津久井 久美子 (国立感染症研究所 寄生動物部), 野崎 智義 (東京大学大学院 医学系研究科 生物医化学)

18:27-18:45

S - D3 - B001 - 010

メントラと原虫創薬における分子標的の解析

* 二瓶 浩一 (微生物化学研究所)

18:45-19:03

S - D3 - B001 - 011

終わりに /Closing

19:03-19:05

マラリア原虫の宿主細胞侵入メカニズム

* 矢幡 一英 (愛媛大学プロテオサイエンスセンター寄生病原体学部門)

キーワード: 寄生性原虫, マラリア原虫, 細胞侵入, 赤血球, 滑走運動

細胞運動は生物に備わる一般的な細胞機能であるが、マラリアの病原体であるマラリア原虫は、「滑走運動」と呼ばれるユニークな運動機構により宿主細胞・組織上を滑走し宿主細胞に侵入する。赤血球に侵入したマラリア原虫は増殖を繰り返し、ヒトでは 40 度を超える発熱や貧血、さらには昏睡状態や痙攣といった脳性マラリア等の重篤な症状を引き起こす。したがって、マラリア原虫がどのように赤血球を認識し、巧みに侵入しているのかという細胞侵入メカニズムを理解することは、マラリア原虫のヒトへの感染を制御するためには重要である。マラリア原虫は蚊、脊椎動物肝臓内、赤血球内という異なる環境に適応しながら宿主に寄生しており、蚊中腸細胞侵入型原虫（オーキネート）と肝細胞侵入型原虫（スポロゾイト）が滑走運動することがこれまで分かっていたが、近年、赤血球侵入型原虫（メロゾイト）が滑走運動していることを見出した。メロゾイトの滑走運動はアクチンモーターによるものであることを明らかにし、また、メロゾイトは赤血球上で滑走運動することで赤血球を変形させ赤血球上の受容体と密に接着している可能性を示唆した。本シンポジウムでは、寄生性原虫がもつユニークな宿主細胞侵入メカニズムを紹介し、ワクチンや創薬標的としての重要性について議論したい。

トキソプラズマ原虫に対する宿主セルオートノマス免疫系とその破綻

* 山本 雅裕 (大阪大学 微生物病研究所 感染病態分野)

キーワード: トキソプラズマ原虫, セルオートノマス免疫系, インターフェロン, オートファジー

トキソプラズマ原虫はヒトを含む全ての恒温動物に感染する人獣共通の寄生虫である。免疫系が正常のヒトや動物では日和見感染しか起こさないが、免疫不全状態にある宿主では致死的なトキソプラズマ症を引き起こす。トキソプラズマ原虫は細胞内に感染してのみ増殖可能であるが、感染宿主細胞内では寄生胞と呼ばれる構造体を作り出し、宿主から様々な栄養を奪い取り寄生生活を成立させている。それに対して宿主免疫系はインターフェロンガンマ (IFN- γ) を産生し、さらに IFN 誘導性タンパク質を作って対抗する。中でも IFN 誘導性 GTPase は寄生胞膜に蓄積し寄生胞膜を破壊することにより、トキソプラズマ原虫の生活の場を無くし、最終的に殺傷する。この IFN 誘導性 GTPase の寄生胞膜の動員のメカニズムには、宿主のオートファジー関連タンパク質が関与しているが、厳密にはオートファジーではないことが演者らの最近の研究から分かっている。また寄生胞形成時に見られる寄生胞膜上のリン脂質の異常蓄積が引き金となって IFN 誘導性 GTPase が寄生胞膜に動員されていることも徐々に明らかになってきた。以上のような宿主セルオートノマス免疫系に攻撃される弱毒型（低病原性）トキソプラズマ原虫の他に、攻撃を免れる強毒型（高病原性）トキソプラズマ原虫が存在する。高病原性トキソプラズマ原虫は様々な病原性エフェクター分子を宿主細胞内に注入して宿主セルオートノマス免疫系を抑制していることが明らかとなってきた。また以前に報告された IFN- γ 依存的セルオートノマス免疫系が作動した宿主細胞内に適応するために必要な原虫遺伝子候補の中から、演者らは最近、病原性エフェクター分子が原虫内で作られるのに関与する分子を見出した。このようにトキソプラズマ原虫は様々な手段によって宿主セルオートノマス免疫系を破綻させることが徐々に明らかになってきた。

寄生性原虫から見出されるオートファジー関連因子の不可解な進化

* 坂本 寛和 (千葉大学大学院医学研究院・感染生体防御学)

キーワード: 原生生物, オートファジー, ユビキチン様結合反応

細胞内の分解系として知られるオートファジーは、オートファジー関連因子 ATG タンパク質群の協調的な分子機構によって遂行される。特に、2つのユビキチン様結合反応系である ATG8 および ATG12 結合系は、真核生物の全ての大系統に保存されており、これらの ATG 遺伝子群は真核生物の共通祖先の時点ですでに獲得されていたことが推察される。ところが、単細胞真核生物（原生生物）の各大系統の各生物種について個別に ATG8/ATG12 結合系に関与する ATG 遺伝子の保存性を検証すると、一部の ATG 遺伝子が欠損した生物種が多数見出された。しかも、その欠損パターンには一定の原則があった。これらの生物から新たなオートファジー分子機構が明らかになる可能性があり、真核細胞の恒常性維持メカニズムの包括的な理解において原生生物は重要な研究材料である。その中でも、私たちは寄生性原虫を材料として、ATG 欠損生物における未知のオートファジー分子機構の解明に取り組んでいる。寄生性原虫は、その他の原生生物よりも細胞生物学的な解析ツールが揃っており、すでにオートファジーの指標である ATG8 タンパク質の局在が解析されている生物が多い。しかし、その局在化の分子機構には解明されるべき課題が蓄積している。本シンポジウムでは、寄生性原虫の ATG 遺伝子の保存性と、それがなぜ不可解なのかを紹介するとともに、寄生性原虫からしか発見できないような新たなオートファジーの分子機構の解明に挑戦している私たちの最新の知見について議論したい。

Functional analysis of the membrane protein TSPAN4 in *Entamoeba histolytica*

* Han Jiang (Department of Biomedical Chemistry, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo), Herbert J. Santos (Department of Biomedical Chemistry, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo), Tomoyoshi Nozaki (Department of Biomedical Chemistry, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo)

キーワード: Entamoeba histolytica, tetraspanin, protein-protein interaction, membrane protein complex

Entamoeba histolytica, a protozoan parasite responsible for human amoebiasis, relies on intricate membrane protein interactions for its pathogenicity. This study focuses on the characterization of three tetraspanin family proteins, TSPAN4, TSPAN12, and TSPAN13, which form complexes and interact with other binding partners on the parasite's membrane. Utilizing both biochemical and biophysical techniques, we investigate the assembly and dynamics of these complexes and their potential role in *E. histolytica*'s pathogenic behavior. Our findings suggest a possible connection between the tetraspanin family proteins and the parasite's virulence, providing insights into potential therapeutic targets for combating amoebiasis.

アフリカトリパノソーマにおける糖鎖修飾とタンパク質輸送

* 中西 雅之 (松山大学薬学部生化学研究室)

キーワード: 原虫, トリパノソーマ, 輸送, 糖鎖修飾

アフリカトリパノソーマ, *Trypanosoma brucei*, は一本の鞭毛で活発に運動する単細胞真核生物である。この生物は哺乳動物の血流中または体液中に寄生して分裂増殖を続け、やがて中枢神経系に侵入してアフリカ睡眠病を引き起こす。宿主細胞内には侵入しないため、常に免疫系に曝されているが、細胞表面を覆う GPI アンカー型変異糖タンパク質 (VSG) によって免疫を回避する。基本的には、発現する VSG の種類を変えることで免疫を回避するが、抗体が少ない場合は抗体-VSG 複合体をエンドサイトーシスで取り込み、抗体のみをリソソーム分解系に渡して回避することも行う。このとき、抗体と解離した VSG は Rab11-rich 小胞によって細胞表面にリサイクリングされるが、新生 VSG や他の新生タンパク質が細胞膜や各オルガネラにどのように運ばれるかはまだ分かっていない。*T. brucei* の膜タンパク質は哺乳動物と同様の合成経路をたどり、小胞体内腔でのオリゴマンノース糖鎖の転移、クオリティコントロール、ゴルジ装置への輸送と複合型糖鎖へのリモデリングを経て標的部位へ輸送される。

本シンポジウムでは、複合型 N-グリカン合成系を欠損させた *T. brucei* 変異株の作出とその糖タンパク質輸送に関する我々の研究を紹介する。この変異株では複合型 N-グリカンの消失と、リソソームタンパク質の増加およびリソソームの拡大が観察されている。

寄生性原虫赤痢アメーバが肝膿瘍形成に必要とするトランスゴルジ輸送

* 中野 由美子 (国立感染症研究所), 牧内 貴志 (東海大学), 柘倉 麻美 (国立感染症研究所), 津久井 久美子 (国立感染症研究所), Carol A. Gilchrist (米国バージニア大学), William A. Petri Jr (米国バージニア大学), 野崎 智義 (東京大学)

キーワード: Arf GTPase, トランスゴルジ, リソソーム輸送, 感染症, ニトロ化ストレス応答

赤痢アメーバなど貪食能を有する原虫は、細胞内膜輸送遺伝子が多細胞生物よりも多様化している。多様化している膜輸送遺伝子として、膜輸送の分子スイッチとして機能する Rab や Sar/Arf family の GTPase、ならびに膜融合の特異性を決定する膜タンパク質 SNARE family などが挙げられ、それらがゲノムにコードされる数を探索することで膜輸送の多様化が明確にされた。一方で貪食能を有する原虫の膜輸送遺伝子は、他種生物とは相同性の低い遺伝子が多数を占め、進化の過程で特異的な機能を獲得してきたことが推測される。

赤痢アメーバの膜輸送の多様化の意義を探るため、病原性の中でも肝膿瘍形成に関与する経路の同定を行った。実験室で長期間培養し病原性を失った株と、ハムスターの肝膿瘍から回収し病原性を高めた株の間で比較発現解析を行い、病原株で発現が上昇した EhArfX2 遺伝子を得た。EhArfX2 は他種生物でゴルジ体に局在する Arf1 とは同一性が低い。EhArfX2 の局在を明らかにするために、小胞体、ゴルジ体、エンドソームマーカーとの共局在を観察したところ、トランスゴルジ SNARE EhYkt6 と最も高いピアソン相関係数を示した。EhArfX2 の不活性型変異を発現させた赤痢アメーバはリソソーム形成に障害を示し、ハムスターの肝膿瘍形成能も低下した。肝膿瘍形成能の低下は、ニトロ化ストレスに対する抵抗性が低下することが原因であった。よって、赤痢アメーバは宿主免疫系が産生する活性酸素種に抵抗を示す経路を持つこと、その経路を EhArfX2 が制御するトランスゴルジからリソソーム輸送が担うこと示した。

赤痢アメーバの小胞輸送を制御するレトロマー複合体の機能分化：2種のVps35アイソタイプの機能解析

* 渡邊 菜月 (東京大学大学院 医学系研究科 生物医化学), 津久井 久美子 (国立感染症研究所 寄生動物部), 野崎 智義 (東京大学大学院 医学系研究科 生物医化学)

キーワード：赤痢アメーバ, レトロマー, 小胞輸送, リソソーム

腸管寄生性原虫である赤痢アメーバ (*Entamoeba histolytica*) では、宿主細胞への接着と貪食、プロテアーゼ等病原因子の分泌が病原性の中心を担う。レトロマー複合体 (レトロマー) は、多様な輸送体 / 受容体の輸送を制御し、貪食された細胞のリソソームでの分解やプロテアーゼの輸送 / 分泌に関与することから、病原性において重要な分子であることが知られている。レトロマーは3つのコアタンパク質 (Vps26, 29, 35) によるコア複合体が、SNX [PX domain (リン脂質結合) 含有] や Rab7 (低分子量 GTPase) 等の補助因子と結合し複雑な機能を実行する。多くの生物ではレトロマーのコア構成因子は各々1種類だが、一部の動物・植物・原虫では複数のアイソタイプが存在する (ヒト: Vps26 × 2; シロイヌナズナ: Vps26 × 2, Vps35 × 3)。特に赤痢アメーバではコアタンパク質が多様化しており (Vps35 × 5, Vps26 × 6)、多様化するレトロマーの機能分化を理解する優れたモデルである。多様化したレトロマーは、異なる isotype の組み合わせにより異なる複合体を形成するのはもちろん、アイソタイプごとにことなる補助因子と結合することも免疫沈降実験から明らかとなった。本研究では、積荷選択等に関わる Vps35 の2つのアイソタイプの機能解析を行った。その結果、Vps35-1 はエンドサイトーシスに関与し、Vps35-2 はプロテアーゼ輸送とエンドサイトーシスに関与していることが明らかとなった。また、Vps35-1 遺伝子発現抑制株でのみ、Vps26 の貪食胞への動員が阻害されることが示された。本発表では、Vps35-1, 2 アイソタイプの異なる働きとその役割について、実験結果をもとにワーキングモデルを示す。

メントラと原虫創薬における分子標的の解析

* 二瓶 浩一 (微生物化学研究所)

キーワード：創薬, 原虫, 分泌, 膜交通, ペプチド

我々は、微化研オリジナルの化合物ライブラリーを用いた原虫創薬研究からトキソプラズマ、マラリア原虫に対して高い抗原虫活性を示すペプチド誘導体をはじめとするいくつかの化合物を発見している。その内の1つメタサイトフィリン (MCF) は、トキソプラズマ感染動物モデルに対して優れた治療効果を示す環状ペプチド類の天然化合物である。近年の創薬研究において環状ペプチド類は、抗癌剤、抗菌剤の新規の候補分子として研究が進んでいるが、その分子標的など作用機序は未だ解っていない。MCF のトキソプラズマに対する分子標的の探索を目的としたトランスクリプトーム解析および生化学的実験による検証を行った。その結果、原虫の Sar1GTPase を介する小胞体のカーゴの選別、品質管理など、初期分泌経路が分子標的の一つであることが示された。しかしながら原虫の分泌における分子機構は未だ分かっていない点が多く、分泌カーゴの選別および COPII 小胞形成で働く Sar1GTPase の活性化メカニズムがその一例でもある。原虫においてグアニンヌクレオチド交換因子 (Sar1GEF/Sec12) に該当する分子は、キネトプラスト、メタモナス、アメーバなどほとんどの原虫に存在しないと考えられている。一方トキソプラズマなどアピコンプレクサ門の一部の原虫において Sar1GEF の存在が示唆されている。さらに MCF 作用におけるトキソプラズマのトランスクリプトーム解析から Sar1GEF に含まれる WD40 リピードドメインを持つ分子群も標的である可能性が示された。

本研究は、実体の解っていない原虫の分泌経路で働く原虫特異的な分子装置を明らかにし、新たな有効な抗原虫薬の分子標的を解明することを目的としている。本シンポジウムでは、原虫で明らかにされていない小胞体 Sar1 とその活性化を担う GEF の特徴と機能について発表したい。

生体分子の振動波を通して発掘する新しい細胞機能

2023/6/30 16:25 ~ 18:55 | C会場

座長：高橋淑子（京都大学大学院理学研究科）

近年のバイオ可視化技術の発展は、細胞機能のダイナミクス研究に新しい視点をもたらしつつある。本シンポジウムでは、生体分子が「振動波」として振る舞う現象をテーマとして、それらの意義をとおして新しい細胞機能を探索することを目的とする。神経系や腸蠕動運動などにみられる多細胞ネットワーク内での Ca²⁺ 振動波、また 1 細胞内での生体分子の空間的振動ダイナミクスを主な対象として、新しい細胞機能を議論したい。若手研究者を中心としたシンポジウム。

S - D3 - C001 - 001

人工細胞内再構成系で探る細胞分裂面を決める極間振動波の性質

* 藤原 慶（慶應義塾大学理工学部）

16:25-16:55

S - D3 - C001 - 002

細胞性粘菌の単細胞と多細胞体におけるシグナル伝達を見る

* 森本 雄祐（九州工業大学 大学院情報工学研究院 | JST さきがけ）

16:55-17:25

S - D3 - C001 - 003

分節時計における遺伝子発現振動波の制御機構

* 磯村 彰宏（京都大学医生物学研究所 | JST さきがけ）

17:25-17:55

S - D3 - C001 - 004

腸ぜん動運動を支える Ca²⁺ 振動波が生み出されるしくみ

* 稲葉 真史（京都大学大学院理学研究科生物科学専攻）、鹿谷 有由希（京都大学大学院理学研究科生物科学専攻）、高橋 淑子（京都大学大学院理学研究科生物科学専攻）

17:55-18:25

S - D3 - C001 - 005

ぜん動運動を制御する神経回路にみられるシナプス集団活動の収束・発散構造

福益 一司（東京大学）、能瀬 聡直（東京大学）、* 高坂 洋史（東京大学）

18:25-18:55

16:25-16:55 (2023-06-30 16:25 - 18:55 | C会場)

S - D3 - C001 - 001

人工細胞内再構成系で探る細胞分裂面を決める極間振動波の性質

* 藤原 慶 (慶應義塾大学理工学部)

キーワード: 合成生物学, 人工細胞, 細胞分裂, 細胞の時空間

細胞内の分子配置における時空間パターンは、単純な相互作用だけでなく、非平衡定常下での化学反応と分子拡散の共役 (反応拡散共役) による物理現象によっても形成することが明らかになりつつある。しかし、細胞内のような μm サイズの空間では、マクロな統計的性質が成り立たないだけでなく、膜界面の効果が顕著化や、閉鎖的な空間にエネルギー生成をともなう非平衡開放系の性質を持つため、物理的な理解は簡単ではない。

我々は反応拡散共役によって生じるバクテリアの細胞分裂面を決定するタンパク質の極間振動波 (Min) 波を人工細胞内で再構成する系を確立し、細胞内の時空間パターンがどのように形成されるのかを追求してきた。本講演ではこの過程で明らかになってきた、Min 波の出現条件、波のモード決定原理や、波長の制御法則や周期の制御法などについて述べる。また、得られた成果が Min 波に限らず、反応拡散共役におけるパターン形成に普遍的な現象か、に関しても議論したい。

【参考文献】 [1] S. Kohyama, et al., eLife, 2019, e44591, [2] S. Takada, et al., Sci. Adv., 2022, 8, eabm8460, [3] S. Takada, et al., ACS Nano, 2022, 16, 10, 16853-16861

16:55-17:25 (2023-06-30 16:25 - 18:55 | C会場)

S - D3 - C001 - 002

細胞性粘菌の単細胞と多細胞体におけるシグナル伝達を見る

* 森本 雄祐 (九州工業大学 大学院情報工学研究院 | JST さきがけ)

キーワード: シグナル伝達, 細胞集団運動, 細胞性粘菌, cAMP シグナルリレー, カルシウムシグナル

細胞性粘菌 *Dictyostelium discoideum* は、走化性を含む細胞運動や、細胞集団運動のモデル生物として扱われている。細胞性粘菌の細胞は飢餓状態になると、環状アデノシンリン酸 (cAMP) を自身でシグナルとして産生、放出することを周期的に繰り返し、これに対する走化性を示すことで、およそ 10 万細胞が集まって 1 つの多細胞体を形成する。我々は、細胞質 cAMP の高感度なライブセルイメージングにより、cAMP シグナルの振動と伝播は、細胞の集合段階では明確に確認されるが、多細胞体を形成して移動し始める段階において周期的なシグナルが徐々に消失することを明らかにした。また、このようなシグナルの遷移は、cAMP シグナルに追従して起こる Ca^{2+} シグナルにおいても同様に計測された。本発表では、シグナル伝達研究のモデル生物である細胞性粘菌の高感度なシグナル伝達計測によって得られてきた結果について論じる。

【参考文献】

1. Hashimura, Morimoto, et al., Commun Biol. 2 : 34. (2019)
2. Hashimura, Morimoto, et al., Sci Rep. 12 (1) : 12428. (2022)

17:25-17:55 (2023-06-30 16:25 - 18:55 | C会場)

S - D3 - C001 - 003

分節時計における遺伝子発現振動波の制御機構

* 磯村 彰宏 (京都大学医生物学研究所 | JST さきがけ)

キーワード: 分節時計, 体節形成, 光遺伝学, 合成生物学

多細胞組織の構築は、シグナル勾配や生物時計などの時空間的な情報を統合することで実現されていると考えられている。しかし、それらがどのような情報を包含していて、どのようなルールで相互に変換・解読されているのかは十分に明らかでない。本発表では、マウス ES 細胞由来の未分節中胚葉細胞でみられる遺伝子発現リズム (分節時計) の振動波をモデルに、光遺伝学技術などを活用して得られた遺伝子発現振動波の制御機構について報告する。

腸ぜん動運動を支える Ca²⁺ 振動波が生み出されるしくみ

* 稲葉 真史 (京都大学大学院理学研究科生物科学専攻), 鹿谷 有由希 (京都大学大学院理学研究科生物科学専攻), 高橋 淑子 (京都大学大学院理学研究科生物科学専攻)

キーワード: 腸, ぜん動運動, カルシウムイメージング, ニワトリ胚, オプトジェネティクス

腸管は「ぜん動波」と呼ばれる筋収縮の波を使って腸内容物を運搬し、効率的な消化および吸収を実現している。ぜん動波の生理機構について解明が進む一方、ぜん動波を生み出す細胞システムが確立される機構についてはほとんど理解が進んでいない。そこで我々は腸ぜん動波が最初に出現する胚発生の時期に注目し、腸管の *in vitro* 観察や遺伝子操作が容易なニワトリ胚をモデルとして、ぜん動波の出現パターンとそれに付随する Ca²⁺ 変化について解析を行った。Ca²⁺ 感受性蛍光タンパク GCaMP6s を含む Tol2 ベクターをエレクトロポレーションにより、将来の腸管筋肉層へ分化する中胚葉領域に導入した。その結果、ぜん動波の筋収縮に付随した Ca²⁺ 波を腸管の広い範囲で検出することに成功した。薬理的な解析により、Ca²⁺ 波を発する細胞は平滑筋細胞とカハール介在細胞 (ICC) に由来することが示唆された。つぎに、ぜん動波の出現箇所を探索したところ、盲腸の近位部および遠位部で平滑筋と ICC の両者に由来する Ca²⁺ 波の周期的な出現を確認した (胚発生 12 日目)。さらに Ca²⁺ 波の出現を遡って解析すると (胚発生 5-6 日目)、平滑筋の収縮がほとんど見られないにも関わらず、盲腸の近位部から散発的な Ca²⁺ 波が観察された。この Ca²⁺ 波は、平滑筋で発現する Ca²⁺ チャネルの阻害剤によって遮断されることから、未成熟な平滑筋に由来すると思われる。以上の結果から、ぜん動波の確立過程において、最初に平滑筋由来の Ca²⁺ 波、その後 ICC の Ca²⁺ 波が出現して、周期的なぜん動波が確立されることが示唆される。また最近、我々はチャンネルロドプシンを利用して、腸ぜん動波を任意の場所、タイミングで誘発する技術を開発した。この技術の利用により、ぜん動波確立のしくみについて理解が大きく進むと期待される。

ぜん動運動を制御する神経回路にみられるシナプス集団活動の収束・発散構造

福益 一司 (東京大学), 能瀬 聡直 (東京大学), * 高坂 洋史 (東京大学)

キーワード: ぜん動運動, 神経回路, 幾何, コネクトミクス, シナプス

動物のぜん動運動において、体軸に沿って体節が順に収縮する。この伝播波において、各体節の中では、筋細胞集団が適切な順序で収縮する。体節内で見られる筋収縮の精妙な時空間パターン制御が神経回路内でどのように実現しているのか、そのシナプスレベルでのダイナミクスは明らかになっていない。

本研究では、ショウジョウバエ幼虫のぜん動運動をモデルとして、中枢神経系が体軸に沿った活動伝播パターンを示すときのシナプス集団の活動ダイナミクスを解析した。幼虫は体節構造をしており、尾側から頭側へ体節の収縮が伝播することでぜん動運動を示す。この運動は、神経活動が中枢神経系の尾側から頭側へ伝播することによって実現する。中枢神経系の活動をシナプスレベルで解析するために、膜局在型のカルシウムプローブを全神経細胞に発現させ、神経活動を蛍光によって可視化した。得られた動画に対して、統計力学の手法を応用して開発したシナプス検出アルゴリズムを適用して、個々のシナプス活動を抽出した。

シナプス集団の活動を調べたところ、尾側から頭側にかけて伝播するパターンに加えて、この伝播方向に直交する方向 (背腹方向と内外側方向) に局所的に伝播するパターンが見られた。そこで、シナプス集団の活動タイミングを三次元空間内のスカラー場とみなして、二階偏微分行列を用いて幾何構造を調べたところ、伝播パターンに収束や発散といった特異点が存在することが明らかになった。この特異点近傍のシナプス群を、コネクトミクス (連続超薄切片の電子顕微鏡画像を用いた解析) の神経細胞データと照合したところ、興味深いことに、発散構造と収束構造は、それぞれ体節内で収縮が早い筋細胞と遅い筋細胞の制御に関与することが示唆された。このことから、筋収縮の精妙な時間制御に、中枢神経系で展開する発散領域から収束領域への活動の流れという時空間幾何構造が関わっていることが示唆される。

細胞の identity change がもたらす組織再生と老化

2023/6/30 16:25 ~ 18:55 | D会場

座長：中西未央 (千葉大学大学院医学研究院)

近年の1細胞解析や細胞系譜追跡技術の進歩により、これまで知られていなかった様々な細胞の分化可塑性が明らかになりつつある。たとえば上皮組織では傷害により特定の前駆細胞や分化細胞の脱分化がおり、組織幹細胞プールを再生することがわかってきた。一方で、このような可塑性制御の異常は組織の恒常性維持に重大な支障をもたらす。そこで本シンポジウムでは分化可塑性の制御による組織再生と、その破綻 (identity crisis) としての老化という正負の側面に光を当て、分子基盤から再生・抗老化医療への展開までを視野に入れた総合的な議論をおこなう。

S - D3 - D002 - 001

始めに /Introduction

16:25-16:31

S - D3 - D002 - 002

老化による血管減少が表皮幹細胞老化を誘導する

* 一條 遼 (京都大学医生物学研究所)

16:31-16:55

S - D3 - D002 - 003

間葉系間質細胞の不均一性から紐解く骨格筋老化のメカニズム

* 上住 聡芳 (九州大学 生体防御医学研究所)

16:55-17:19

S - D3 - D002 - 004

皮膚老化に伴う表皮幹細胞アイデンティティ変化：幹細胞微小環境に着眼して

* 佐田 亜衣子 (熊本大学国際先端医学研究機構)

17:19-17:43

S - D3 - D002 - 005

MYCL によるリプログラミングを介した成熟臍島細胞の増幅

* 山田泰広 (東京大学大学院 医学系研究科 分子病理学分野)

17:43-18:07

S - D3 - D002 - 006

腸管の傷害誘導性幹細胞の同定とがんにおける役割

* 比嘉 綱己 (九州大学 生体防御医学研究所), 岡 毅寛 (九州大学 生体防御医学研究所), 沖田 康孝 (九州大学 生体防御医学研究所), 松本 有樹修 (九州大学 生体防御医学研究所), 中山 敬一 (九州大学 生体防御医学研究所)

18:07-18:31

S - D3 - D002 - 007

心筋細胞の脱分化と増殖を誘導する転写因子

* 菊地 和 (国立循環器病研究センター 研究所心臓再生制御部)

18:31-18:55

16:31-16:55 (2023-06-30 16:25 - 18:55 | D会場)

S - D3 - D002 - 002

老化による血管減少が表皮幹細胞老化を誘導する

* 一條 遼 (京都大学医生物学研究所)

キーワード: 老化, 線維芽細胞, 表皮幹細胞

幹細胞老化はさまざまな要因によって誘導されることが知られている。しかし、老化による外部環境の変化が幹細胞に与える影響については未解明である。そこで、我々は老化による皮膚表皮幹細胞の機能低下とそれらを取り巻く環境の変化に着目した。single cell RNA sequence の結果から、表皮幹細胞の下層に存在する線維芽細胞、血管が表皮幹細胞の恒常性維持に重要であることを同定した。さらに老化により線維芽細胞から分泌される因子が血管減少を誘導し、真皮の硬化が誘導されることも同定した。本発表では最新のデータを含めて紹介したい。

16:55-17:19 (2023-06-30 16:25 - 18:55 | D会場)

S - D3 - D002 - 003

間葉系間質細胞の不均一性から紐解く骨格筋老化のメカニズム

* 上住 聡芳 (九州大学 生体防御医学研究所)

キーワード: 間葉系間質細胞, 骨格筋, サルコペニア, 不均一性

骨格筋は運動や身体活動を司り健康維持に欠かせない役割を果たしている。しかし、加齢に伴い筋量および筋力は低下し、サルコペニアと呼ばれるコンディションに陥る。サルコペニアは単に運動能力を低下させるだけでなく、全身の健康状態を悪化させ健康寿命の短縮を招く。超高齢社会に突入し、健康寿命の延伸が求められる我が国において、サルコペニアの克服は必須の課題である。我々は、骨格筋組織の間質に存在する間葉系間質細胞 (mesenchymal stromal cells: MSCs) を発見し、骨格筋の脂肪化や線維化の起源となることを明らかにしてきた (Nat Cell Biol 2010, J Cell Sci 2011)。その後、MSCs の病的な役割については世界的に研究が進んだが、そもそも本細胞が何のために存在するのか、その本質的な機能については不明のままであった。それに対し、我々は MSCs を欠損するマウスを作製し、本マウスが顕著な筋萎縮、筋力低下を呈することから、定常状態の筋の維持に必須の役割を果たしていることを証明した (J Clin Invest 2021)。また、運動による筋の適応 (筋肥大) にも MSCs が必要であることを示し (Cell Stem Cell 2022)、MSCs が生理的にも極めて重要な細胞であることを明らかにした。近年の単一細胞解析により、MSCs は均一な細胞集団ではなく、遺伝子発現プロファイルによって、いくつかのサブポプレーションに分かれることが示されている。最近、我々は、それぞれのサブポプレーションが固有の機能を発揮していることを示唆するデータを得つつある。本講演では、この MSCs の不均一性に基づき、筋の老化メカニズムを紐解く現在の我々の取り組みについて紹介したい。

17:19-17:43 (2023-06-30 16:25 - 18:55 | D会場)

S - D3 - D002 - 004

皮膚老化に伴う表皮幹細胞アイデンティティ変化: 幹細胞微小環境に着目して

* 佐田 亜衣子 (熊本大学国際先端医学研究機構)

キーワード: 老化, 皮膚, 幹細胞, 再生, 細胞外マトリックス

近年、皮膚の加齢性機能低下の一因として、分化細胞の供給源である幹細胞の老化 (ステムセルエイジング) が提唱されている。我々は、マウス表皮において分裂頻度の異なる Dlx1、Slc1a3 陽性の幹細胞集団の存在を見出し、その性質や制御機構の解明に取り組んできた。老化プロセスにおける分裂頻度の異なる 2 種類の表皮幹細胞の役割を探るため、2 年間にわたる長期的な細胞系譜解析を行ったところ、加齢とともに分裂頻度の低い Dlx1 陽性の表皮幹細胞クローンが拡大する一方で、活発に分裂する Slc1a3 陽性の表皮幹細胞クローンは徐々に減少し、表皮幹細胞集団の不均衡が生じていることが分かった。マウス皮膚において、細胞外マトリックスである fibulin-7 を欠損すると、Slc1a3 陽性の表皮幹細胞クローンの減少促進、創傷治癒の遅延、炎症関連遺伝子の上昇が認められ、皮膚老化様の表現型を呈することを見出した。Fibulin-7 は、基底膜構造を作る ECM やマトリセルラータンパク質と相互作用し、fibulin-7 を過剰発現させると、ドメイン依存的に幹細胞の未分化性の維持および増殖抑制の作用が見られた。以上の結果から、fibulin-7 は、表皮幹細胞周囲の微小環境を構築し、幹細胞のストレス応答の制御を介して、皮膚レジリエンスを長期的に維持し、老化を防ぐ鍵となるマトリックスであることが示唆された。本シンポジウムでは、生体内で長期的に表皮幹細胞の運命を追跡する細胞系譜解析、細胞分裂動態の可視化、網羅的な分子プロファイリング等によって明らかにされつつある皮膚再生・老化の仕組みについて、幹細胞アイデンティティの維持と破綻という視点から議論したい。

MYCL によるリプログラミングを介した成熟膵島細胞の増幅

* 山田泰広 (東京大学大学院 医学系研究科 分子病理学分野)

キーワード: 膵島細胞, リプログラミング, 再生, 若返り

成熟膵島細胞の自己再生能は限定的であり、膵島再生の大きな障壁となっている。我々は、マウス発生過程の増殖期膵島細胞に MYCL 遺伝子が発現し、出生前後の膵島細胞の増殖に重要な役割を果たすことを明らかにした。さらに成体マウス生体内において MYCL 遺伝子の発現誘導を行うことで、成熟膵島細胞に活発な増殖を誘導することに成功した。MYCL 遺伝子の発現により成熟膵島細胞の転写状態が胎仔期細胞に類似した状態にリプログラミングされることで、細胞増殖関連遺伝子の発現が亢進していることを見出した。MYCL 遺伝子の発現誘導により生体内で増殖させた膵島細胞は、MYCL 遺伝子発現停止後も残存し、正常膵島細胞と区別できない遺伝子発現状態を示した。さらに増殖した alpha 細胞の一部は MYCL 遺伝子発現停止後にインスリン産生細胞に変化することを見出した。MYCL 遺伝子により生体内で増幅させた膵島細胞は高い機能性を有し、マウス糖尿病を治療できることを提示した。さらに、試験管内においても MYCL 遺伝子は成熟膵島細胞の増殖活性を付与できることを示した。Ex vivo で増幅させた膵島細胞も高い機能性を有し、モデルマウスへの移植により糖尿病を治療可能であった。最後に、ヒト脳死ドナー由来膵島細胞に MYCL 遺伝子を発現させることにより、ヒト膵島細胞に増殖活性を付与できることを見出した。本発表では、MYCL 遺伝子によるリプログラミングを介した膵島再生医療の開発と老化形質解除の試みについて紹介する。

腸管の傷害誘導性幹細胞の同定とがんにおける役割

* 比嘉 綱己 (九州大学 生体防御医学研究所), 岡 毅寛 (九州大学 生体防御医学研究所), 沖田 康孝 (九州大学 生体防御医学研究所), 松本 有樹修 (九州大学 生体防御医学研究所), 中山 敬一 (九州大学 生体防御医学研究所)

キーワード: 腸管幹細胞, 脱分化, がん幹細胞, 静止状態, p57

腸管上皮は大きな傷害を受けた後でも高度な再生力を示す組織である。腸管陰窩に存在する Lgr5 陽性幹細胞は、定常状態における上皮の維持に重要であるものの、抗がん剤や放射線傷害によりほぼ完全に失われてしまう。このような状況下でも腸管上皮は問題なく維持されることから、組織再生に重要な別の幹細胞分画の存在が示唆されてきた。

p57 はサイクリン /CDK 複合体を抑制することで、細胞周期の静止状態の維持に重要な役割を果たす分子である。われわれはこれまでに、p57 が造血幹細胞や神経幹細胞に特異的に発現していることを見出し、p57 陽性細胞の系統追跡マウスや可視化マウスを作出した。

われわれは腸管陰窩において、p57 が Lgr5 陽性幹細胞とはまったく異なる、稀少な静止状態の細胞に特異的に発現していることを見出した。腸管 p57 陽性細胞は定常状態では内分泌細胞として存在しており、幹細胞としての機能は有しないものの、組織傷害時には脱分化を介して幹細胞性を獲得し、腸管上皮の再生に重要な役割を果たすことがわかった。また 1 細胞 RNA-seq 解析から、p57 陽性細胞の脱分化の過程では、胎児様変化と胃上皮化生様変化を特徴とする生理的なリプログラミングが生じていることが明らかとなった。すなわち、脱分化は単なる分化系譜の逆行ではなく、組織の時空間的アイデンティティを大規模に再構築しながら幹細胞性を獲得していく過程であることが判明した。

このような脱分化はがんの中では恒常的に観察されたことから、われわれは腸管腫瘍でも p57 陽性細胞の解析を行った。腸管悪性腫瘍では、p57 は Lgr5 陽性がん幹細胞の中の、増殖の遅い亜集団に特異的に発現していることを見出した。この細胞集団は治療抵抗性のがん幹細胞として機能しており、腫瘍内の p57 陽性細胞を選択的に焼灼することでがんの治療後再発を効果的に抑制できることがわかった。

心筋細胞の脱分化と増殖を誘導する転写因子

* 菊地 和 (国立循環器病研究センター研究所心臓再生制御部)

キーワード: ゼブラフィッシュ, 心臓, 再生, 心筋細胞, 脱分化

高い再生能を有する魚類や両生類の心臓は損傷後もほぼ完全に再生する。この生理的な心臓再生では損傷部位近傍の心筋細胞が未分化な状態へと脱分化し、増殖することが重要であると考えられている。最近の研究では同様の細胞機構を介して哺乳類の心臓も生後数日間は再生することが報告されており、心筋細胞の脱分化・増殖機構に介入する新たな心筋再生療法の開発が期待されている。これまでの研究から、Neuregulin-1-ErbB2 経路、Hippo-Yap 経路、低酸素処置などによる心筋再生誘導が報告されているが、損傷と心筋細胞の脱分化をつなぐ分子機構、細胞周期再進入の制御機構についての理解は未だ不十分である。我々は成体においても高い再生能力を有するゼブラフィッシュを用いて、心筋再生を制御する分子細胞機構の研究を進めてきた。本発表では最近同定した心筋細胞の脱分化・増殖制御に関わる転写因子について、その機能と治療応用への可能性について議論したい。

機器処分で困ったら

不用な

- ・メーカーが引き取ってくれない
- ・どこに頼めば良いかわからない
- ・フロンガスが入っているので処分できないと言われた



そんな時はご相談を

ご注意！

大気中へのフロン放出は法律により罰せられます。
第一種フロン類充填回収業者に引き渡す必要有ります。

フロン排出抑制法（法第86条）

フロン類の放出の禁止

何人も、みだりに特定製品に冷媒として充填されているフロン類を大気中に放出してはならない。

（違反者には1年以上の懲役又は50万円以下の罰金が科せられます。）



わたしたち、
**大阪薬研に全て
おまかせください!**

まずはお気軽にお問い合わせを
【関西】TEL 072-726-1162
【関東】TEL 047-302-3271
【WEB】<http://www.yakken.co.jp>



試薬と環境の未来を拓く
YAKKEN 大阪薬研株式会社
<http://www.yakken.co.jp>

【本 社】〒562-0015 大阪府箕面市稲5丁目13番10号
TEL:072-726-1162 FAX:072-726-1170
【東京営業所】〒273-0034 千葉県船橋市二子町565
TEL:047-302-3271 FAX:047-302-3270

事業内容

■産業廃棄物・特別管理産業廃棄物収集運搬業 ■試薬・医薬・理化学機器の販売 ■研究設備の製造販売 ■不要ボンベの回収

2023年6月28日(水)

1日目

ポスター発表

ポスター発表 (1日目)

2023/6/28 15:30 ~ 17:00 | ポスター会場

シグナル伝達、免疫・感染、細胞骨格・運動、細胞接着・細胞外マトリクス

P - D1 - P001 - 001

Identification of Circular Dorsal Ruffles as Signal Platforms for the AKT/mTORC1 Pathway in Glomerular Podocytes

* Sei Yoshida (Nankai University College of Life Sciences, Tianjin, China), Jinzi Wei (Nankai University College of Life Sciences, Tianjin, China), Rui Hua (Nankai University College of Life Sciences, Tianjin, China)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 002

2色同時超解像動画観察による GPI- アンカー型タンパク質の膜ドメイン形成機構の解明

* 川合 登偉 (岐阜大学 自然科学技術研究科 | iGCORE), 笠井 倫志 (iGCORE), 廣澤 幸一郎 (iGCORE), 横田 康成 (岐阜大学 工学部), 鈴木 健一 (iGCORE)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 003

EGFR リガンド群の細胞外動態の差異が創り出す細胞間情報伝達様式

* 出口英梨子 (京都大学大学院医学研究科 病態生物医学), 林 杼豪 (京都大学大学院医学研究科 病態生物医学), 松田 樹生也 (京都大学大学院生命科学研究科 生体制御学分野), 平山 大記 (京都大学大学院生命科学研究科 生体制御学分野), 隅山 健太 (名古屋大学大学院生命農学研究科 動物科学専攻 動物遺伝育種学研究室), 築地 真也 (名古屋工業大学大学院工学研究科), 松田 道行 (京都大学大学院医学研究科 病態生物医学 | 京都大学大学院生命科学研究科 生体制御学分野), 寺井 健太 (京都大学大学院医学研究科 病態生物医学)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 004

超解像顕微鏡法による細胞膜内層脂質ドメインのシグナル伝達場としての機能解明

* 森俊貴 (岐阜大学連合農学研究科), 廣澤 幸一郎 (岐阜大学 iGCORE), 笠井 倫志 (岐阜大学 iGCORE), 田口 友彦 (東北大学生命科学研究科), 横田 康成 (岐阜大学工学部), 鈴木 健一 (岐阜大学 iGCORE)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 005

浸透圧ストレスはミトコンドリアで直接感知され PDK を介して糖代謝を迅速・可逆的に変化させる

* 名黒 功 (東京大学大学院薬学系研究科 細胞情報学教室), 一條 秀憲 (東京大学大学院薬学系研究科 細胞情報学教室)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 006

蛍光検出 HPLC を用いた低分子量 G タンパク質の活性化状態解析法の構築と KRAS/G12C 阻害剤活性評価への応用

* 荒木 信 (明治薬科大学・生化学), 吉本 果穂 (明治薬科大学・生化学), 粕谷 幸花 (明治薬科大学・生化学), 呉 実可子 (明治薬科大学・生化学), 紺谷 圈二 (明治薬科大学・生化学)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 007

分子振動が刻む発生時計は多細胞体制出現のタイミングを制御する

* 山下 謙介 (東邦大学大学院理学研究科生物学専攻), 村本 哲哉 (東邦大学理学部生物学科)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 008

光遺伝学を用いた p53 シグナル伝達経路の操作法開発

* 鶴岡 樹 (自然科学研究機構, 生命創成探究センター, 定量生物学研究グループ | 自然科学研究機構, 基礎生物学研究所, 定量生物学研究部門 | 総合研究大学院大学, 生命科学研究科, 基礎生物学専攻), 後藤 祐平 (自然科学研究機構, 生命創成探究センター, 定量生物学研究グループ | 自然科学研究機構, 基礎生物学研究所, 定量生物学研究部門 | 総合研究大学院大学, 生命科学研究科, 基礎生物学専攻), 青木 一洋 (自然科学研究機構, 生命創成探究センター, 定量生物学研究グループ | 自然科学研究機構, 基礎生物学研究所, 定量生物学研究部門 | 総合研究大学院大学, 生命科学研究科, 基礎生物学専攻)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 009

細胞膜損傷が誘起する P2Y₂ 受容体を介した Ca²⁺ の動員と cAMP の産生

* 東郷 建 (聖マリアンナ医科大学解剖学講座)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 010

腸を起点とした老化制御ネットワークの遺伝学的解析

* 山田 幸輝 (京都大学薬学研究科 生理活性制御学分野), 芥 真弓 (京大生命科学研究科 システム機能学分野), 平井 友梨 (京都大学薬学研究科 生理活性制御学分野), 谷口 喜一郎 (京大生命科学研究科 システム機能学分野), 井垣 達吏 (京都大学薬学研究科 生理活性制御学分野 | 京大生命科学研究科 システム機能学分野)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 011

A potential role of AP2A1 in cellular senescence via regulation of integrin translocation

* Pirawan Chantachotikul (Division of Bioengineering, Graduate School of Engineering Science, Osaka University), Shinji Deguchi (Division of Bioengineering, Graduate School of Engineering Science, Osaka University)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 012

ストレスファイバーの張力恒常性のシステム論的理解

* 松元 瑛司 (大阪大学大学院基礎工学研究科), 松永 大樹 (大阪大学大学院基礎工学研究科), 出口 真次 (大阪大学大学院基礎工学研究科)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 013

LSR-KO 細胞が呈する細胞遊走亢進における GPCR の関与

* 幸野貴之 (札幌医科大学医学部附属フロンティア医学研究所細胞科学部門), 菊池真 (札幌医科大学医学部解剖学第一講座), 金野匠 (札幌医科大学医学部附属フロンティア医学研究所細胞科学部門), 小島隆 (札幌医科大学医学部附属フロンティア医学研究所細胞科学部門)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 014

自然免疫シグナルによるがん抑制型細胞競合の制御機構

* 掛村 文吾 (京都大学大学院生命科学研究科 システム機能学分野), 谷口喜一郎 (京都大学大学院生命科学研究科 システム機能学分野), 近藤周 (東京理科大学先進工学部 生命システム工学科), 齋藤都暁 (国立遺伝学研究所 無脊椎動物遺伝研究室), 井垣達吏 (京都大学大学院生命科学研究科 システム機能学分野)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 015

がん抑制型細胞競合のメカニズムおよびその新規制御因子の遺伝的解析

* 菱 瑞和 (京都大学大学院生命科学研究科), 祁 慎介 (京都大学大学院生命科学研究科), 城戸 明日香 (京都大学薬学部), 近藤 周 (東京理科大学先進工学部 | 国立遺伝学研究所), 齋藤 都暁 (東京理科大学先進工学部 | 国立遺伝学研究所), 小林 朋絵 (重井医学研究所), 松山 誠 (重井医学研究所), 谷口 喜一郎 (京都大学大学院生命科学研究科), 井垣 達吏 (京都大学大学院生命科学研究科 | 京都大学薬学部)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 016

発生過程において周期的に局在変化する転写因子のタイミング制御

* 石山 雄一郎 (東邦大学大学院理学研究科生物学専攻), 船江 聡子 (東邦大学大学院理学研究科生物学専攻), 山下 謙介 (東邦大学大学院理学研究科生物学専攻), 村本 哲哉 (東邦大学理学部生物学科)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 017

プロテオミクス解析による EphA2 チロシンリン酸化の検出と細胞質分裂への関与

* 長谷川 七海 (京都薬大・生化学), 北郷 真由絵 (京都薬大・生化学), 中山 祐治 (京都薬大・生化学)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 018

肉芽腫深部で生じる好中球 S100A9 依存的マクロファージ M2 化機構の解明

* 水谷 龍明 (京都大学医生物学研究所), 阿野 敏明 (京都大学医生物学研究所), 水田 賢志 (長崎大学大学院医歯薬総合研究科), 竹本 経緯子 (京都大学医生物学研究所), 鶴山 竜昭 (京都大学大学院医学系研究科), 藤原 永年 (帝塚山大学), 森田 大輔 (京都大学医生物学研究所), 杉田 昌彦 (京都大学医生物学研究所)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 019

肺炎球菌の表層糖鎖を特異的に認識するガレクチンの結合様式に関する解析

* 古屋瑠菜 (国立感染症研・細 1 | 東京医歯大院・医歯学総合・分子病原体), 小川道永 (国立感染症研・細 1), 齋藤良一 (東京医歯大院・医歯学総合・分子病原体), 明田幸宏 (国立感染症研・細 1)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 020

マクロファージの貪食活性化におけるカルシウム透過チャネル TRPV2 の重要性

* 川勝薫平 (甲南大学大学院フロンティアサイエンス研究科), 勢田佳加 (甲南大学大学院フロンティアサイエンス研究科), 出川詩織 (甲南大学フロンティアサイエンス学部), 取井猛流 (甲南大学大学院フロンティアサイエンス研究科), 川内敬子 (甲南大学大学院フロンティアサイエンス研究科 | 甲南大学フロンティアサイエンス学部), 曾我部 隆彰 (生理学研究所 細胞生理研究部門 生命創成探究センター), 富永真琴 (生理学研究所 細胞生理研究部門 生命創成探究センター)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 021

SARS-CoV-2 の宿主細胞侵入機構の解析

* 藤岡容一郎 (北大・院医・細胞生理), 鬼塚洋之進 (北大・院医・細胞生理), 田村友和 (北大・院医・病原微生物), 柏木彩花 (北大・院医・細胞生理), 島田琉海 (北大・院医・細胞生理), 小澤史弥 (北大・院医・細胞生理), 福原崇介 (北大・院医・病原微生物), 吉田藍子 (北大・院医・細胞生理), 釜崎とも子 (北大・院医・細胞生理), 酒井信明 (北大・院医・細胞生理), 天野麻穂 (北大・院医・細胞生理), 大場雄介 (北大・院医・細胞生理)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 022

Deficiency of TASL aggravates rheumatoid arthritis by regulating Th17 cell differentiation.

* Soyeon Jang (School of Life Science, BK21 FOUR KNU Creative BioResearch Group, Kyungpook National University, Daegu, 41566, Republic of Korea), Soyoung Jang (School of Life Science, BK21 FOUR KNU Creative BioResearch Group, Kyungpook National University, Daegu, 41566, Republic of Korea), Hyeng-Soo Kim (School of Life Science, BK21 FOUR KNU Creative BioResearch Group, Kyungpook National University, Daegu, 41566, Republic of Korea), Zae Young Ryoo (School of Life Science, BK21 FOUR KNU Creative BioResearch Group, Kyungpook National University, Daegu, 41566, Republic of Korea)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 023

Overexpression of cathepsin S aggravates lupus pathogenesis by regulating TLR7 and IFN-alpha.

* Yun Ki Lee (School of Life Sciences, BK21 FOUR KNU Creative BioResearch Group, Kyungpook National University, Daegu 41566, Republic of Korea), Zae Young Ryoo (School of Life Sciences, BK21 FOUR KNU Creative BioResearch Group, Kyungpook National University, Daegu 41566, Republic of Korea)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 024

Deletion of TASL regulates imiquimod-induced psoriasis like inflammation

* Ji yeong Park (School of Life Sciences, BK21 FOUR KNU Creative BioResearch Group, Kyungpook National University, Daegu 41566, Republic of Korea), Soyoung Jang (School of Life Sciences, BK21 FOUR KNU Creative BioResearch Group, Kyungpook National University, Daegu 41566, Republic of Korea), Hyeong-Soo Kim (School of Life Sciences, BK21 FOUR KNU Creative BioResearch Group, Kyungpook National University, Daegu 41566, Republic of Korea), Zae Young Ryoo (School of Life Sciences, BK21 FOUR KNU Creative BioResearch Group, Kyungpook National University, Daegu 41566, Republic of Korea)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 025

Serum amyloid A stimulates γ δ T cells and neutrophils to secrete IL-17 which affects bone density.

* Hee Young Chae (School of Life Sciences, BK21 FOUR KNU Creative BioResearch Group, Kyungpook National University, Daegu 41566, Republic of Korea), Zae Young Ryoo (School of Life Sciences, BK21 FOUR KNU Creative BioResearch Group, Kyungpook National University, Daegu 41566, Republic of Korea)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 026

上皮と免疫細胞の時空間相互作用による生体恒常性維持

* 榎本 将人 (京都大学大学院生命科学研究所), 井垣 達吏 (京都大学大学院生命科学研究所)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 027

Delta variant of SARS-CoV-2 induces severe neurotropic patterns in K18-hACE2 mice

* GUNHEE LEE (Jeonbuk University)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 028

Trypanosoma brucei の宿主自然免疫回避機構

* 後藤 芳邦 (帝京平成大学薬学部), 石毛 奈桜 (帝京平成大学薬学部), 野元 (松山大学薬学部), 辻本 雅文 (帝京平成大学薬学部), 中西 雅之 (松山大学薬学部)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 029

Nanog 過剰発現がん細胞由来の細胞外小胞が免疫系細胞に及ぼす影響

* 齊藤 美佳子 (東京農工大学 工学部 生命工学専攻), Celine Swee May Khoo (東京農工大学 工学部 生命工学専攻), 佐藤 藍梨 (東京農工大学 工学部 生命工学専攻), 片山 乃天 (東京農工大学 工学部 生命工学専攻), 櫻井 萌衣 (東京農工大学 工学部 生命工学専攻), 辺見 拓也 (東京農工大学 工学部 生命工学専攻)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 030

細菌感染におけるシグナル伝達因子 STING が制御する分解経路の解析

* 飯伏 純平 (京都大学大学院医学研究科微生物感染症学), 野澤 孝志 (京都大学大学院医学研究科微生物感染症学), 中川 一路 (京都大学大学院医学研究科微生物感染症学)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 031

クリックケミストリーを用いた食食活性化における脂質ラフトの機能解析

* 出川詩織 (甲南大学フロンティアサイエンス学部), 川勝 薫平 (甲南大学大学院 フロンティアサイエンス研究科), 勢田 佳加 (甲南大学大学院 フロンティアサイエンス研究科), 上田 菜摘美 (甲南大学大学院 フロンティアサイエンス研究科), 長濱 宏治 (甲南大学フロンティアサイエンス学部 | 甲南大学大学院 フロンティアサイエンス研究科), 西方 敬人 (甲南大学フロンティアサイエンス学部 | 甲南大学大学院 フロンティアサイエンス研究科)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 032

A possible role of exosomal hydrolase receptors in the pathogenesis of the human intestinal parasite *Entamoeba histolytica*

* Herbert J. Santos (Graduate School of Medicine, The University of Tokyo), Tomoyoshi Nozaki (Graduate School of Medicine, The University of Tokyo)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 033

トリプトファンによる精子超活性化運動の促進

* 藤ノ木政勝 (獨協医科大学医学部先端医科学統合研究施設実験動物センター実験動物研究室)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 034

核移行因子 KPNA1 の神経軸索における新規機能

* 水野 克俊 (福井大学学術研究院医学系部門), 菅原 将樹 (福井大学学術研究院工学系部門), 加藤 諒大 (福井大学学術研究院工学系部門), 野宮 廣貴 (福井大学学術研究院医学系部門), 伊藤 貴文 (福井県立大学生物資源学部), 藤田 聡 (福井大学学術研究院工学系部門), 山田 雅己 (福井大学学術研究院医学系部門)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 035

ブレブ形成・拡大を制御する分子機構の解明

* 藤井 悠貴 (九州大学大学院 システム生命科学府), 池ノ内 順一 (九州大学 理学研究院)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 036

平滑筋形質膜機能分化の微細形態学的解析

* 田中 秀幸 (帝京大学医学部解剖学講座)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 037

KPNA1 遺伝子欠損マウスを用いた向精神薬誘発統合失調症モデルにおける遺伝要因と環境要因の相互作用 (G x E) の解析

* 野宮 廣貴 (福井大学医学部 分子生体情報学), 櫻井 航輝 (大阪大学 蛋白質研究所 高次脳機能学 | 大阪大学蛋白質研究所 機能・発現プロテオミクス研究室), 疋田 貴俊 (大阪大学 蛋白質研究所 高次脳機能学), 宮本 洋一 (医薬基盤・健康・栄養研究所 細胞核輸送ダイナミクスプロジェクト), 岡 正啓 (医薬基盤・健康・栄養研究所 細胞核輸送ダイナミクスプロジェクト), 山田 雅己 (福井大学医学部 分子生体情報学)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 038

骨格繊維病の原因となる IFT81 の変異は Bardet -Biedl 症候群 (BBS) 様の繊維の異常を引き起こす

* 田崎 晃司 (京都大学大学院薬学研究科 生体情報制御学分野)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 039

微小管架橋因子 MTCL2 のゴルジ体局在機構の解析

* 八重樫 愛由 (横浜市立大学 生命医科学研究科 分子細胞医科学研究室), 島袋 仁菜 (横浜市立大学 生命医科学研究科 分子細胞医科学研究室), 鈴木厚 (横浜市立大学 生命医科学研究科 分子細胞医科学研究室)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 040

確率論的 Wnt 応答軟骨芽細胞の発生を起点とした縞状形態パターンニング機構の解明

* 中山 彰吾 (理化学研究所生命機能科学研究センター)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 041

単細胞緑藻類クラミドモナスの繊維で新規に見つかった蛋白質合成系の解明

* 久保智広 (山梨大学医学部)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 042

シューティン 1b と N-カドヘリンの相互作用を介した神経細胞移動機構の解析

* 上 宗馬 (奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域 神経システム生物学研究室), 嶺岸 卓徳 (奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域 神経システム生物学研究室), 稲垣 直之 (奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域 神経システム生物学研究室)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 043

Rac の不活化因子 FilGAP は乳がん細胞の浸潤突起形成を抑制する

* 齊藤康二 (北里大学 理学部 生物科学科), 小澤咲乃 (北里大学 理学部 生物科学科), 千葉陽介 (北里大学 理学部 生物科学科), 高橋留梨 (北里大学 理学部 生物科学科), 尾籠遼也 (北里大学 理学部 生物科学科), 向井康治朗 (東北大学大学院 生命科学研究科), 田口友彦 (東北大学大学院 生命科学研究科), 畠山裕康 (北里大学 医学部 生理学), 高橋倫子 (北里大学 医学部 生理学), 太田安隆 (北里大学 理学部 生物科学科)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 044

アクチン指紋突起構造 Microridges 形成における I-BAR domain タンパク質の役割

* 稲葉泰子 (奈良先端科学技術大学院大学), 中村 葵 (奈良先端科学技術大学院大学), 長岡 龍也 (奈良先端科学技術大学院大学), 別所 康全 (奈良先端科学技術大学院大学)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 045

骨格筋に発現する非筋型ミオシン IIC の役割

* 眞鍋康子 (東京都立大学), 濱口裕貴 (東京都立大学), 平岡詩乃 (東京都立大学), 笹田智暉 (東京都立大学), 古市泰郎 (東京都立大学), 藤井宣晴 (東京都立大学)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 046

両生類無尾目・有尾目幼生の消化管末端部の内腔の繊毛の分化と繊毛運動について

* 金海香 (神奈川大学大学院理学研究科生物科学領域), 茂木和枝 (神奈川大学総合理学研究所), 豊泉龍児 (神奈川大学大学院理学研究科生物科学領域 | 神奈川大学総合理学研究所)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 047

A role of membrane tension in osteoclast fusion

* WAN YUMENG (神戸大学医学研究科医科学 バイオシグナル総合研究センター)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 048

両生類幼生における腸管の巻きの形態形成

* 吉本 菜歩 (神奈川大学大学院理学研究科生物科学領域), 秋永 薫 (神奈川大学総合理学研究所), 茂木 和枝 (神奈川大学総合理学研究所), 安積 良隆 (神奈川大学大学院理学研究科生物科学領域 | 神奈川大学総合理学研究所), 豊泉 龍児 (神奈川大学大学院理学研究科生物科学領域 | 神奈川大学総合理学研究所)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 049

Role of actin regulators in SARS-CoV-2 induced cell fusion

* KOU LINTING (神戸大学医学研究科医科学 バイオシグナル総合研究センター)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 050

微小管結合タンパク質 Camsap3 は卵胞成熟において卵母細胞と顆粒層細胞を繋ぐ架橋構造の維持に役割を果たす

* 相川皓洋 (早稲田大学 先進理工学研究科 生命医科学), 都筑花那子 (早稲田大学 先進理工学研究科 生命医科学), 佐治園子 (早稲田大学 先進理工学研究科 生命医科学), 伊藤潤哉 (麻布大学・獣医学・動物応用科学 | 麻布大学・ヒトと動物の共生科学), 戸谷美夏 (早稲田大学・国際理工学・Bioscience), 佐藤政充 (早稲田大学 先進理工学研究科 生命医科学 | 早稲田大学・構造生物・創薬研)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 051

Quantitative analysis of Paxillin dynamics measured by live-

* 楊 雅婷 (京都大学 医学研究科)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 052

上皮細胞が移動能を段階的に獲得する機構の解明

* 稲木美紀子 (大阪大学・院理・生物科学), 矢田健吾 (大阪大学・院理・生物科学), 松野健治 (大阪大学・院理・生物科学)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 053

ショウジョウバエ Myo1D による細胞左右軸獲得機構の高解像度解析

* 倉永 英里奈 (東北大学大学院生命科学研究科), 関根 清薫 (東北大学大学院生命科学研究科), 上地 浩之 (東北大学大学院生命科学研究科), 中里 楓 (東北大学大学院生命科学研究科), 佐藤 繭子 (理化学研究所環境資源科学研究センター質量分析・顕微鏡解析ユニット), 岡山 聡子 (理化学研究所生命機能科学研究センター超微形態研究チーム), 尾上 健太 (理化学研究所生命機能科学研究センター超微形態研究チーム), 米村 重信 (理化学研究所生命機能科学研究センター超微形態研究チーム), 豊岡 公德 (理化学研究所環境資源科学研究センター質量分析・顕微鏡解析ユニット)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 054

上皮組織の集団細胞移動における細胞周期依存的な制御メカニズムの解明

* 二宮 小牧 (東北大・院・生命・組織形成 | 東北大・理・生物・組織形成), 白澤 諒太 (東北大・院・生命・組織形成), 岩月 貴之 (東北大・院・生命・組織形成), 大島 綾笑 (東北大・理・生物・組織形成), 倉永 英里奈 (東北大・院・生命・組織形成 | 東北大・理・生物・組織形成)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 055

上皮細胞集団が局所的な管腔構造を決定する制御メカニズムの解析

* 青山 美波 (東北大学・院・生命・組織形成), 二宮 小牧 (東北大学・院・生命・組織形成), 倉永 英里奈 (東北大学・院・生命・組織形成)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 056

樹状細胞移動のための力発生機構の解析

* 馬場 健太郎 (奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域), 武内 良介 (奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域), 長嶋 慶和 (奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域), 酒井 瑞貴 (奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域), 東口 泰奈 (奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域), 神戸 弘子 (奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域), 植田 祥啓 (関西医科大学 附属生命医学研究所 分子遺伝学部門), 上岡 裕治 (関西医科大学 附属生命医学研究所 分子遺伝学部門), 木梨 達雄 (関西医科大学 附属生命医学研究所 分子遺伝学部門), 稲垣 直之 (奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 057

概日リズムと一次繊毛の関係性

* 中里 亮太 (広島大学医系科学研究科解剖学及び発生生物学研究室), 松田 悠生 (広島大学医系科学研究科解剖学及び発生生物学研究室), 木曾 遼太郎 (広島大学医系科学研究科解剖学及び発生生物学研究室), 池上 浩司 (広島大学医系科学研究科解剖学及び発生生物学研究室)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 058

染色体倍加細胞における余剰中心体動態

* 猪子 雅哉 (北海道大学 大学院生命科学院), 塚田 祐基 (名古屋大学 大学院理学研究科), 上原 亮太 (北海道大学 先端生命科学研究院)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 059

線虫 *C.elegans* のキネシン KLP-6 と UNC-104 の比較によるキネシン -3 の活性化メカニズムの解明

* 北 智輝 (東北大学大学院生命科学研究科), 丹羽 伸介 (東北大学大学院生命科学研究科 | 東北大学学際科学フロンティア研究所)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 060

上皮極性形成におけるアクチンリング構造の機能解析

* 柴田桂太朗 (徳島大学大学院医歯薬学研究部細胞生物学分野), 米村重信 (徳島大学大学院医歯薬学研究部細胞生物学分野)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 061

機械的力を感知した細胞の運動変化と細胞集団に与える影響

* 浅野 千帆莉 (徳島大学医学部細胞生物学分野 | 徳島大学医学部 Student Lab), 柴田 桂太朗 (徳島大学医学部細胞生物学分野), 石田 紘基 (徳島大学医学部細胞生物学分野 | 徳島大学医学部 Student Lab), 米村 重信 (徳島大学医学部細胞生物学分野)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 062

出芽酵母における Rho ファミリータンパク質によるアクチンケーブルの形成機構の解明

* 工藤伽那子 (東京理科大学大学院)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 063

スキルス胃がん細胞と間質線維芽細胞の直接的な相互作用を担う分子機構

* 山口 英樹 (公益財団法人佐々木研究所 附属佐々木研究所 腫瘍細胞研究部), 永村 ゆう子 (公益財団法人佐々木研究所 附属佐々木研究所 腫瘍細胞研究部), 宮崎 允 (公益財団法人佐々木研究所 附属佐々木研究所 腫瘍細胞研究部)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 064

高浸透圧ストレスによるタイトジャンクション拡大機構解析

* 長 佑磨 (九州大学システム生命科学府), 谷口 明香梨 (九州大学理学部生物学科), 池ノ内 順一 (九州大学理学研究院)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 065

ビネキシン α - ホスファチジン酸相互作用はビネキシン α の接着斑への安定的な局在に寄与する

* 立花 大 (京都大学), 鎌田 一希 (京都大学), 伊藤 有亮 (京都大学), 木岡 紀幸 (京都大学)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 066

Pacsin 2-dependent N-cadherin internalization regulates the migration behaviour of malignant cancer cells

* Haymar Wint (1.Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama University), Jianzhen Li (2. Laboratory for Neural Cell Dynamics, RIKEN Center for Brain Science, Wako, Saitama), Tadashi Abe (1.Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama University), Hiroshi Yamada (1. Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama University), Takumi Higaki (4.International Research Organization for Advanced Science and Technology, Kumamoto University), Yasutomo Nasu (5. Department of Urology, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences), Masami Watanabe (5.Department of Urology, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences), Kohji Takei (1.Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama University), Tetsuya Takeda (1.Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama University)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 067

Shootin1b を介した動的なアクチンフィラメントと E-カドヘリンの連結による細胞間接着形成機構の解析

* 酒巻 裕介 (奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・バイオサイエンス領域・神経システム生物学), 嶺岸 卓徳 (奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・バイオサイエンス領域・神経システム生物学), 寺澤 滉太 (奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・バイオサイエンス領域・神経システム生物学), Saranpal Singh (奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・バイオサイエンス領域・神経システム生物学), 栗原 幸代 (奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・バイオサイエンス領域・神経システム生物学), 鳥山 道則 (奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・バイオサイエンス領域・神経システム生物学 | 関西学院大学・生命環境学部・生命医科学科・脳神経イメージング), 西村 珠子 (奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・バイオサイエンス領域・分子医学細胞生物学), 末次 志郎 (奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・バイオサイエンス領域・分子医学細胞生物学), 稲垣 直之 (奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・バイオサイエンス領域・神経システム生物学)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 068

Tight junction membrane proteins in mechanical resistance of apical junctions

* Thanh Phuong NGUYEN (Department of Physiological Sciences, SOKENDAI, JAPAN | Division of Cell Structure, National Institute for Physiological Sciences, Okazaki, JAPAN)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 069

肝星細胞活性化抑制作用を有する肝細胞と肝星細胞間の接着因子の探索

* 井上 喜来々 (大阪公立大学大学院理学研究科 発生生物学研究室 | 大阪公立大学大学院医学研究科 肝胆膵病態内科学研究室), 松原 三佐子 (大阪公立大学大学院獣医研究科 細胞分子生物学教室 | 大阪公立大学大学院医学研究科 合成生物学寄附講座), 松原 勤 (大阪公立大学大学院医学研究科 機能細胞形態学講座), 湯浅 秀人 (大阪公立大学大学院医学研究科 機能細胞形態学講座), 宇留島 隼人 (大阪公立大学大学院医学研究科 機能細胞形態学講座), 大黒 敦子 (大阪公立大学大学院医学研究科 機能細胞形態学講座), 池田 一雄 (大阪公立大学大学院医学研究科 機能細胞形態学講座), 吉里 勝利 (大阪公立大学大学院医学研究科 合成生物学寄附講座), 鈴木 孝幸 (大阪公立大学大学院理学研究科 発生生物学研究室), 河田 則文 (大阪公立大学大学院医学研究科 肝胆膵病態内科学研究室)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 070

三塩基繰り返し配列伸長の有無で分類したフックス角膜内皮ジストロフィ疾患モデル細胞の樹立

* 安永 真理 (同志社大学大学院 生命医科学研究科), 奥村 直毅 (同志社大学大学院 生命医科学研究科), 中川 達也 (同志社大学大学院 生命医科学研究科), 鎌田 蓮矢 (同志社大学大学院 生命医科学研究科), Theofilos Tourtas (University of Erlangen-Nürnberg, Department of Ophthalmology), Ursula Schlötzer-Schrehardt (University of Erlangen-Nürnberg, Department of Ophthalmology), Friedrich Kruse (University of Erlangen-Nürnberg, Department of Ophthalmology), 中原 マキ子 (アクチュアライズ株式会社), 小泉 範子 (同志社大学大学院 生命医科学研究科)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 071

フックス角膜内皮ジストロフィ患者由来角膜内皮細胞を用いた *TCF4* 遺伝子の病態への関与の検討

* 西内 豪 (同志社大学大学院 生命医科学研究科), 奥村 直毅 (同志社大学大学院 生命医科学研究科), 中川 達也 (同志社大学大学院 生命医科学研究科), 中原 マキ子 (アクチュアライズ株式会社), Theofilos Tourta (University of Erlangen-Nürnberg, Department of Ophthalmology), Ursula Schlötzer-Schrehard (University of Erlangen-Nürnberg, Department of Ophthalmology), Friedrich Kruse (University of Erlangen-Nürnberg, Department of Ophthalmology), Prema Padmanabhan (Department of Cornea and Refractive Surgery, Sankara Nethralaya, Chennai, India), Sailaja Elchur (Department of Nanobiotechnology, Vision Research Foundation, Sankara Nethralaya Campus, Chennai, India), Amit Chatterje (Department of Nanobiotechnology, Vision Research Foundation, Sankara Nethralaya Campus, Chennai, India), Narayanan Janakiraman (Department of Nanobiotechnology, Vision Research Foundation, Sankara Nethralaya Campus, Chennai, India), Gajanan Sathe (Institute of Bioinformatics, Bangalore, India), Vivek Ghose (Institute of Bioinformatics, Bangalore, India), 小泉範子 (同志社大学大学院 生命医科学研究科)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 072

上皮シート構造を維持する中間径線維ネットワークにおけるインテグリン $\alpha 6 \beta 4$ -プレクチン結合の重要性

* 平子 善章 (名古屋大学大学院理学研究科), 橋本 航 (名古屋大学大学院理学研究科), 浅倉 亮佑 (名古屋大学大学院理学研究科)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 073

Human skin equivalents 実験系にラミニン 511 断片を添加すると、形成される基底膜様構造が強化される

* 藤崎ひとみ ((株)ニッピ), 遠目塚千紗 ((株)ニッピ), 水野一乗 ((株)ニッピ), 渡邊敬文 (酪農学園大学), 西山敏夫 (東京農工大学), 友野靖子 (重井医学研究所), 服部俊治 ((株)ニッピ)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 074

接着斑タンパク質 CAP の液-液相分離能の検証

* 山崎陵 (京都大学)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 075

インテグリン $\beta 4$ 鎖セリン残基のアラニン置換によるヘミデスモソーム画分調製の効率化の検討

* 久保田 (名古屋大学大学院理学研究科理学専攻生命理学領域), 平子善章 (名古屋大学大学院理学研究科理学専攻生命理学領域)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 076

ZO / アファディン欠損 F9 細胞におけるカドヘリンの局在と機能

* 裏山 悟司 (奈良県立医科大学 医学部), 新田 勇治 (奈良県立医科大学 医学部), 川島 牧 (奈良県立医科大学 医学部), 小林 千余子 (奈良県立医科大学 医学部), 永瀬 昭良 (奈良県立医科大学 医学部)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 077

乾燥耐性細胞 Pv11 細胞における接着乾燥保存法の開発

* 布施 寛人 (東京大学大学院 新領域創成科学研究科 先端生命科学専攻 | 農業・食品産業技術総合研究機構 生物素材開発研究領域 生物機能利用研究部門), 黄川田 隆洋 (東京大学大学院 新領域創成科学研究科 先端生命科学専攻 | 農業・食品産業技術総合研究機構 生物素材開発研究領域 生物機能利用研究部門), CORNETTE Richard (農業・食品産業技術総合研究機構 生物素材開発研究領域 生物機能利用研究部門)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 078

ホスホリパーゼ Cbeta による上皮細胞極性の調節機構

* 栗栖 修作 (徳島大学大学院 医歯薬学研究部), 米村 重信 (徳島大学大学院 医歯薬学研究部 | 理研・BDR・超微形態研究チーム)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 079

間葉系幹細胞の自己多層化には collagen-integrin interactions が必須である

* 望月 真衣 (日本歯科大学 生命歯科学講座 | 日本歯科大学 生命歯学部 発生・再生医科学講座), 中原 貴 (日本歯科大学 生命歯学部 発生・再生医科学講座)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 080

がん細胞における内部標準遺伝子の発現はメバロン酸経路の阻害により変動する

* 入江 七海 (関西学院大学大学院 理工学研究科), 割田 克彦 (鳥取大学 農学部 獣医解剖), 田代 二郎 (鳥取大学 農学部 獣医解剖), 周 雅軒 (関西学院大学大学院 理工学研究科), 石川 拓郎 (愛知医科大学 医学部), Zoltán N. Oltvai (ロチェスター大学 医学部), 割田 友子 (関西学院大学 生命環境学部)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 081

Primary Cilium-dependent Humoral Bioactive Factors Control Fibroblast Cell Migration and Proliferation

* Faryal Ijaz (Graduate of Biomedical and Health Sciences, Hiroshima University), Koji Ikegami (Graduate of Biomedical and Health Sciences, Hiroshima University)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 082

機械刺激依存的な Ca²⁺ 波の伝搬がアポトーシス細胞の排除を駆動する

* 山田 壮平 (弘前大学 理工学研究科 | 奈良先端科学技術大学院大学 物質創成科学領域), 安國 良平 (奈良先端科学技術大学院大学 物質創成科学領域 | 大阪工業大学 工学部), 別所 康全 (奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス領域), 藤田 恭之 (京都大学大学院 医学研究科), 細川 陽一郎 (奈良先端科学技術大学院大学 物質創成科学領域), 松井 貴輝 (奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス領域)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 083

微小管の翻訳後修飾と細胞内輸送のダイナミクス

* 小林 美穂 (東京医科歯科大学 大学院 医歯学総合研究科 病態生化学分野), 廣瀬 穂香 (東京医科歯科大学 大学院 医歯学総合研究科 病態生化学分野), 小林 ゆめ (東京医科歯科大学 大学院 医歯学総合研究科 病態生化学分野 | 北里大学 理学部 生物科学科 細胞生物学講座), 渡部 徹郎 (東京医科歯科大学 大学院 医歯学総合研究科 病態生化学分野)

15:30-17:00

P - D1 - P001 - 084

グラフェンを用いたバイオセンサーの可能性

* 伊藤 翔碧 (福岡大学 附属大濠高等学校)

15:30-17:00

インフルエンザウイルス感染促進機構の解明

* 小澤 史弥 (北海道大学大学院 医学研究院 細胞生理学教室), 藤岡 谷一郎 (北海道大学大学院 医学研究院 細胞生理学教室), 吉田 藍子 (北海道大学大学院 医学研究院 細胞生理学教室), 柏木 彩花 (北海道大学大学院 医学研究院 細胞生理学教室), 釜崎 とも子 (北海道大学大学院 医学研究院 細胞生理学教室), 酒井 信明 (北海道大学大学院 医学研究院 細胞生理学教室), 天野 麻穂 (北海道大学大学院 医学研究院 細胞生理学教室), 大場 雄介 (北海道大学大学院 医学研究院 細胞生理学教室)

15:30-17:00

Identification of Circular Dorsal Ruffles as Signal Platforms for the AKT/mTORC1 Pathway in Glomerular Podocytes

* Sei Yoshida (Nankai University College of Life Sciences, Tianjin, China), Jinzi Wei (Nankai University College of Life Sciences, Tianjin, China), Rui Hua (Nankai University College of Life Sciences, Tianjin, China)

キーワード: macropinocytosis, AKT, mTORC1, podocyte, Circular dorsal ruffle

Various cellular mechanisms and signal transductions precisely and coordinately regulate cell growth and differentiation. The mechanistic target of rapamycin complex 1 (mTORC1) is one of the main signaling molecules and is regulated by the kinase protein AKT. Therefore, the critical roles of the AKT/mTORC1 pathway in human health and disease have been demonstrated in the past decades. In this context, to understand kidney filtration, we have been studying the role of the mTORC1 pathway as well as the protein synthesis mechanism in podocytes, which are highly developed kidney epithelial cells that function as the outer layer of the filtration mechanism (JCI 2011, Science 2011, Autophagy 2012, JCI 2021). We showed that a podocyte-specific TSC1 KO mouse, in which mTORC1 is continuously activated, has severe diabetic nephropathy and dies within 14 weeks after birth (JCI 2011), suggesting that appropriate activation of mTORC1 is critical for the growth regulation of podocytes. As another research direction, we have been studying circular dorsal ruffles (CDRs), rounded membrane ruffles induced by growth factors as precursors of large-scale endocytosis called macropinocytosis. In addition to their role in cellular uptake, our studies have shown that CDRs/macropinocytosis regulate the AKT/mTORC1 pathway (JCB 2015, JLB 2017, JCS 2018, CCS 2022). Based on these backgrounds, in the current study, we investigated the roles of CDRs in podocyte functions (JCP 2023). Strikingly, high-resolution scanning electron microscopy (SEM) revealed that glomerulus podocytes express CDRs in mouse tissue. Moreover, we observed that CDRs were induced in podocytes located on the surface of isolated glomerulus and podocyte cell line MPC5 after epidermal growth factor (EGF) treatment. Biochemical analysis showed that inhibition of CDRs attenuated the EGF-activated AKT/mTORC1 pathway in podocytes. Thus, we concluded that CDRs have critical roles in podocytes to modulate the AKT/mTORC1 pathway in terms of kidney filtration. In this presentation, we will summarize our previous reports, introduce new findings, and discuss the possibility of CDRs as a new therapeutic target for kidney disease. We would be glad if the Japanese Society of Cell Biology members would evaluate our data and give us critical comments.

2色同時超解像動画観察による GPI- アンカー型タンパク質の膜ドメイン形成機構の解明

* 川合 登偉 (岐阜大学 自然科学技術研究科 | iGCORE), 笠井 倫志 (iGCORE), 廣澤 幸一郎 (iGCORE), 横田 康成 (岐阜大学 工学部), 鈴木 健一 (iGCORE)

キーワード: GPI- アンカー型タンパク質, 脂質ラフト, 膜ドメイン, 超解像顕微鏡法, タンパク質間相互作用

形質膜外層の GPI- アンカー型タンパク質 (GPI-AP) は、定常状態で、アクチン結合タンパク質にアンカーされた PS との飽和脂肪酸鎖間の膜表裏カップリングにより、数百 nm の膜ドメインを形成すると提案されている (Cell, 2015; Cell, 2019)。一方、我々は、GPI-AP は特異的なタンパク質間相互作用と協同的な脂質相互作用により、一過的な (-150 ミリ秒) ホモダイマーやオリゴマーを形成することを見出した (Nat. Chem. Biol, 2012)。一見、これらの結果は矛盾しているが、GPI-AP ホモダイマーを集積する膜ドメインを立証すれば両者を説明できると考えた。そこで本研究では、2色同時超解像動画観察技術を開発し、生細胞上で GPI-AP の数百 nm の膜ドメイン形成を検証し、存在する場合は、形成機構解明を試みた。結果、定常状態において、GPI-AP の約 100nm の膜ドメインが一過的に形成・消滅することを見出した。共局在解析の結果、特異的なタンパク質間相互作用のある Thy1 や CD59 などの GPI-AP は、同種同士がドメイン中で強く共局在し、他種とは弱く共局在していた。また、コレステロール除去などで脂質相互作用を弱めると、ドメイン同士の共局在が著しく減少した。一方、タンパク質間相互作用がない Halo7-GPI や Folate receptor などの GPI-AP は、同種同士のドメインの共局在もあまりなかった。さらに、PS や PI (4,5)P2 は、アクチンにアンカーされると、いずれの GPI-AP との共局在も増加した。以上の結果から、アクチンにアンカーされた内層リン脂質と GPI-AP との膜表裏カップリングにより、GPI-AP の膜ドメインは形成されるが、側方方向の特異的なタンパク質間相互作用と協同的な脂質相互作用が GPI-AP ダイマーや膜ドメインの集積を促進すると結論づけた。

15:30-17:00 (2023-06-28 15:30 - 17:00 | ポスター会場)

P - D1 - P001 - 003

EGFR リガンド群の細胞外動態の差異が創り出す細胞間情報伝達様式

* 出口英梨子 (京都大学大学院医学研究科 病態生物医学), 林抒豪 (京都大学大学院医学研究科 病態生物医学), 松田樹生也 (京都大学大学院生命科学研究所 生体制御学分野), 平山大記 (京都大学大学院生命科学研究所 生体制御学分野), 隅山健太 (名古屋大学大学院生命農学研究科 動物科学専攻 動物遺伝育種学研究室), 築地真也 (名古屋工業大学大学院工学研究科), 松田道行 (京都大学大学院医学研究科 病態生物医学 | 京都大学大学院生命科学研究所 生体制御学分野), 寺井健太 (京都大学大学院医学研究科 病態生物医学)

キーワード: EGFR リガンド, 細胞外動態, ERK, 細胞間情報伝達, EGFR

上皮成長因子受容体 (EGFR) リガンドは EGFR に結合する 7 種類の増殖因子である。EGFR は細胞増殖や癌化において重要な役割を担う受容体として詳細に研究されてきたが、その 7 種類のリガンドは機能的に重複しており、それぞれの生理的機能には不明の点が多い。例えば、各リガンドのシェディング制御や拡散範囲、さらに標的細胞活性化機構といった細胞外動態は謎に包まれている。そこで本研究では、蛍光タンパク質で各 EGFR リガンドを可視化し、それらの細胞外動態を比較した。

本研究では 7 つの EGFR リガンドと、ErbB3、ErbB4 受容体に結合する NRG1 を解析対象とした。これら 8 つのリガンドの細胞外領域に赤色蛍光タンパク質 mScarlet、細胞内領域に緑色蛍光タンパク質 mNeonGreen を融合させた新規蛍光プローブを作製した。プローブを MDCK 細胞に発現させ、増殖因子としての生理的機能を持つことを確認した。プローブを用いた解析により、ADAM プロテアーゼによる切断効率および周囲細胞への取り込まれやすさがいずれも 8 種類のリガンドで大きく異なることを見出した。また、タンパク質局在制御技術 SLIPT を利用したプローブ分泌系と、EGFR 下流の MAP キナーゼ ERK の FRET バイオセンサーを用いて、8 種類のリガンド分泌時の周囲細胞の ERK 活性をそれぞれ調査した。その結果、各プローブ発現細胞から同心円状に ERK 活性が伝播し、特に低親和性リガンドである EREG や AREG が、高親和性リガンドよりも効率良く ERK 活性を伝播することを見出した。さらに、ノックアウトマウスの生体イメージングより、マウス皮膚の創傷治癒に EREG が寄与することを明らかにした。

これらの結果から、本研究では複数の EGFR リガンドの特異的な細胞外動態を見出し、細胞間シグナル伝達における各リガンドの生理的機能の違いを示唆した。

15:30-17:00 (2023-06-28 15:30 - 17:00 | ポスター会場)

P - D1 - P001 - 004

超解像顕微鏡法による細胞膜内層脂質ドメインのシグナル伝達場としての機能解明

* 森俊貴 (岐阜大学連合農学研究科), 廣澤幸一郎 (岐阜大学 iGCORE), 笠井倫志 (岐阜大学 iGCORE), 田口友彦 (東北大学生命科学研究科), 横田康成 (岐阜大学工学部), 鈴木健一 (岐阜大学 iGCORE)

キーワード: 超解像顕微鏡法, 1 分子イメージング, シグナル伝達, 脂質ドメイン, シグナル伝達場

細胞形質膜上の脂質は、脂質ラフトなどのシグナル伝達や制御の場を形成すると言われてきたが、直接可視化された例がない。それどころか、形質膜内層に脂質ドメインが形成されているかどうかさえ不明であった。これは、細胞固定後に免疫蛍光染色すると、脂質同士が架橋されるため、高時空間分解能で脂質の正確な局在を観察することが難しいことに起因している。本研究では、この問題を解決するため、生細胞膜内層上の脂質動態を高精度に可視化しようと試みた。そのため、超解像顕微鏡法である PALM または dSTORM を高速で行い、リアルタイム動画を取得した。結果、観察した 6 種類の内層脂質は、いずれも直径約 100 nm の一過的なドメインを形成していた。さらに、PALM と dSTORM を同時に高速で行い、2 種類の脂質ドメインを同時観察したところ、脂質ドメイン同士は一過的に共局在し、共局在強度は脂質の種類に依存することを明らかにした。次に、これら脂質ドメインが K-Ras のシグナル伝達のプラットフォームであるかを検証した。K-Ras は形質膜内層に局在する低分子量 G タンパク質で、その変異は多くのがんの原因である。これまでに、K-Ras は活性化後、内層脂質 (特にホスファチジルセリン) 依存的にクラスター形成することが報告されているが、生細胞の形質膜上では不明であった。そこで、EGF 受容体刺激前後の生細胞膜上での K-Ras と脂質ドメインの共局在を同様の手法で観察した。結果、K-Ras は活性化依存的に局在する脂質ドメインを乗り換えることを見出した。さらに、BRAF など K-Ras 下流のシグナル分子も、専ら特定の脂質ドメイン選択的にリクルートされることを見出した。これらの結果は、K-Ras シグナル伝達は脂質ドメインで起きていることを示している。本発表では、脂質ドメインによる K-Ras シグナル伝達制御機構の詳細を議論したい。

浸透圧ストレスはミトコンドリアで直接感知され PDK を介して糖代謝を迅速・可逆的に変化させる

* 名黒 功 (東京大学大学院薬学系研究科 細胞情報学教室), 一條 秀憲 (東京大学大学院薬学系研究科 細胞情報学教室)

キーワード: 浸透圧ストレス, ミトコンドリア, 糖代謝, ピルビン酸デヒドロゲナーゼキナーゼ (PDK), ATP

半透膜の細胞膜を持つ細胞にとって浸透圧ストレスは不可避の環境因子であり、浸透圧の高低で収縮・膨張の圧力を受ける。近年、炎症やがんの患部で Na^+ が蓄積し、高浸透圧環境が形成されることが報告されている。このような局所環境は、がん細胞や免疫細胞の性質を変化させ病態に関与することが示唆されているが、個々の細胞が浸透圧環境をどのように感知して応答するかについて分子機構は十分理解されていない。本研究ではがん微小環境や免疫細胞の機能と関連の深い細胞代謝に注目し浸透圧ストレスの影響を解析した。

浸透圧刺激時の HeLa 細胞の酸素消費速度を測定すると、数分という短時間のうちに低浸透圧で上昇、高浸透圧で低下が観察され、ミトコンドリアにおける OXPHOS が両方向性かつ迅速に変化することが示唆された。 $^{13}\text{C}_6$ グルコースをトレーサーとして糖代謝物のメタボローム解析を行うと、高浸透圧で好氣的解糖が亢進し乳酸産生が増加すると共に、TCA 回路代謝物への ^{13}C 取り込み抑制が観察された。この時、PDK によるピルビン酸脱水素酵素 (PDH) の抑制性リン酸化が亢進しており、高浸透圧でピルビン酸からアセチル CoA への変換が阻害され OXPHOS が低下したと考えられた。興味深いことに、浸透圧刺激による PDH のリン酸化変化は単離ミトコンドリアでも同様に観察されたことから、ミトコンドリアが直接浸透圧を感知して代謝変化を起こすことが明らかになった。高浸透圧時の糖代謝変化を薬剤で抑制すると、細胞内の ATP 量が低下し細胞死が亢進した。以上より、この糖代謝変化は浸透圧ストレス時の ATP 維持に必要と考えられる。また、この浸透圧依存的な代謝変化は、がん微小環境での細胞生存や、免疫細胞の代謝リモデリングにも寄与する可能性が考えられる。

蛍光検出 HPLC を用いた低分子量 G タンパク質の活性化状態解析法の構築と KRAS/G12C 阻害剤活性評価への応用

* 荒木 信 (明治薬科大学・生化学), 吉本 果穂 (明治薬科大学・生化学), 粕谷 幸花 (明治薬科大学・生化学), 呉 実可子 (明治薬科大学・生化学), 紺谷 園二 (明治薬科大学・生化学)

キーワード: 低分子量 G タンパク質, RHEB, KRAS, 蛍光検出 HPLC

低分子量 G タンパク質は、GDP 結合型と GTP 結合型の構造転換を介して、細胞内の様々なシグナル伝達系や物質輸送系などを制御しており、その活性化状態 (Guanine nucleotide binding) の制御異常は癌などの疾患の発症に関与している。従って、細胞内における低分子量 G タンパク質の活性化状態を明らかにすることは、その機能や疾患との関連性を解明するうえで重要である。これまでに低分子量 G タンパク質の活性化状態の解析では、代謝ラベル法やプルダウンアッセイなどが用いられているが、それらの手法においては、簡便性や汎用性などの面で課題が残されている。そこで本研究では、蛍光検出 HPLC を用いて、低分子量 G タンパク質に結合していた Guanine nucleotide を高感度かつ定量的に測定することにより、様々な低分子量 G タンパク質の活性化状態を解析可能な手法の開発を試みた。

まず、蛍光検出 HPLC の条件検討を行い、GDP 及び GTP の定量下限が約 2 fmol の測定条件を確立した。この条件を用いることで、HeLa 細胞から免疫沈降した Flag-RHEB に結合した Guanine nucleotide の定量を試みたところ、内在性に近い発現量の Flag-RHEB であっても、その Guanine nucleotide 結合型を解析可能であった。また近年、癌原遺伝子 KRAS の変異型 (KRAS/G12C) 特異的阻害剤が肺がん治療薬として承認され注目を集めているが、この阻害剤が細胞内における KRAS の活性化状態に与える影響に関しては不明な点が多く、それらについても蛍光検出 HPLC を用いたアッセイ系により解析した。その結果、KRAS/G12C 阻害剤処理によって、細胞内での KRAS/G12C の GTP 結合型の減少と共に、GDP 結合型の増加が観察された。以上より本アッセイ系は、様々な低分子量 G タンパク質の活性化状態を、高感度かつ定量的に解析できる有用なツールになると考えられた。

15:30-17:00 (2023-06-28 15:30 - 17:00 | ポスター会場)

P - D1 - P001 - 007

分子振動が刻む発生時計は多細胞体制出現のタイミングを制御する

* 山下 謙介 (東邦大学大学院理学研究科生物学専攻), 村本 哲哉 (東邦大学理学部生物学科)

キーワード: 分子振動, 発生時計, ローパスフィルタ, 光操作

多細胞生物は、時空間的な制約の中で複雑かつ精巧な形づくりを達成する必要がある。単純な発生分化のモデル生物である細胞性粘菌 *Dictyostelium discoideum* においても、栄養飢餓を引き金とした約 24 時間の厳密な発生プログラムが進行する。その過程では、個々の粘菌細胞が周期的な cAMP シグナルの螺旋波を利用して集し多細胞体制を構築する。近年、この cAMP 振動に応答して核と細胞質を周期的に局在変動する転写因子 GtaC が報告された。ただし、GtaC は低周波数の cAMP 振動のみを選択的に転写活性へと変換するローパスフィルタ機能を持つ可能性があった。さらに、cAMP 振動は発生の進行に伴って高周波数へと変調する性質があるため、GtaC は時期特異的な周波数変調の検出にも機能していると考えられている。この仕組みは、発生の適切なタイミングで遺伝子発現を制御する発生時計として機能すると予想されているが、現在までに十分な証拠は得られていなかった。本発表では、ライブイメージングによる GtaC の詳細な周期動態解析および光操作によるローパスフィルタ機能の評価を通して、分子振動を介した発生のタイミング制御機構について議論したい。

15:30-17:00 (2023-06-28 15:30 - 17:00 | ポスター会場)

P - D1 - P001 - 008

光遺伝学を用いた p53 シグナル伝達経路の操作法開発

* 鶴岡 樹 (自然科学研究機構, 生命創成探究センター, 定量生物学研究グループ | 自然科学研究機構, 基礎生物学研究所, 定量生物学研究部門 | 総合研究大学院大学, 生命科学研究所, 基礎生物学専攻), 後藤 祐平 (自然科学研究機構, 生命創成探究センター, 定量生物学研究グループ | 自然科学研究機構, 基礎生物学研究所, 定量生物学研究部門 | 総合研究大学院大学, 生命科学研究所, 基礎生物学専攻), 青木 一洋 (自然科学研究機構, 生命創成探究センター, 定量生物学研究グループ | 自然科学研究機構, 基礎生物学研究所, 定量生物学研究部門 | 総合研究大学院大学, 生命科学研究所, 基礎生物学専攻)

キーワード: 光遺伝学, シグナル伝達, 転写因子, p53, 細胞周期

がん抑制タンパク質 p53 は、細胞ストレス応答に関わる様々なシグナル伝達経路を制御するハブとして機能する。ストレスによって活性化した p53 は、ゲノム上に存在する多数の p53 応答配列を認識して結合し、複数の標的遺伝子の転写を同時に調節する。近年、p53 が制御する細胞応答において、p53 発現量の時間動態 (ダイナミクス) が重要な役割を果たすことが明らかになってきた。すなわち、異なるタイプの細胞ストレス (細胞への入力情報) は、p53 のダイナミクスへと符号化 (encoding) された後、多様な下流遺伝子の発現パターンや細胞の表現型へと復号化 (decoding) される。しかし、p53 のダイナミクスが p53 の翻訳後修飾や他のシグナル伝達経路とどのように協調しているかは、未だ明らかになっていない。そのため、p53 シグナル伝達経路を特異的に活性化し、異なるシグナル伝達経路から分離して解析可能な系の開発が強く望まれている。

ここでは、p53 シグナル伝達経路の制御を可能にする光遺伝学ツールの開発について報告する。我々は、p53 の転写活性化ドメイン (p53TAD) を p53 の DNA 結合ドメイン (p53DBD) へ光依存的にリクルートすることで、p53 の転写活性を制御する光遺伝学系を設計した。本系では、光依存的なタンパク質相互作用の操作を行うために、青色光応答性タンパク質である CRY2 とその結合ドメイン CIBN を用いた。CRY2 と CIBN を、それぞれ p53DBD と p53TAD に融合し細胞に発現させると、光照射依存的な p53 の転写活性化が観察された。

また、もう 1 つのアプローチとして、内在性 p53 の発現動態を制御可能な光遺伝学ツールを設計した。本系では、光依存的にタンパク質間相互作用を解除する LOVTRAP システムを用いた。また、LOVTRAP に対し、p53 の負の制御因子であるユビキチンリガーゼ MDM2 を阻害する短いペプチド配列を組み合わせることで、光依存的な p53 発現動態の制御を目指した。本系では、暗条件下でミトコンドリア外膜に阻害ペプチドが捕捉されており、光照射により阻害ペプチドが解離して核内に局在することで、MDM2 を阻害し、p53 発現量を増加させる。これらのコンストラクトを細胞に発現させると、光照射依存的に p53 の発現量増加および転写活性化が観察された。今回我々が開発した光遺伝学ツールは、p53 シグナル伝達経路やそのダイナミクスが果たす役割を定量的に理解する上で強力なツールとなり得る。本発表では、p53 を対象とした光遺伝学的ツールの開発とその機能検証について紹介する。

細胞膜損傷が誘起する P2Y₂ 受容体を介した Ca²⁺ の動員と cAMP の産生

* 東郷 建 (聖マリアンナ医科大学解剖学講座)

キーワード: プリン作動性シグナル, P2 受容体, Ca²⁺, cAMP

細胞膜の損傷と修復は、物理的な負荷がかかる組織・器官を構成する細胞で広く観察される。また、細胞は繰り返し与えられた細胞膜損傷をより早く修復する修復増強反応を備えている。この反応は細胞膜損傷を受けた細胞のみならず、その周辺の細胞においても観察され、それには細胞膜損傷が誘起するプリン作動性シグナルが関与している。今回、細胞膜損傷によって放出された ATP が周辺の細胞にどのように作用を及ぼすか、MDCK 細胞を用いて検討した。その結果、細胞膜損傷は周辺の細胞において、P2Y₂ 受容体を介してホスホリパーゼ C を活性化することで Ca²⁺ の動員を誘起し、更にこのシグナル伝達によって cAMP の産生が活性化されていることが示唆された。PKC や PKA のキナーゼ活性を阻害した条件下では、周辺の細胞における修復増強反応は観察されなかった。以上の結果から、P2Y₂ プリン受容体を介した細胞間シグナル伝達は、細胞膜損傷を受けた細胞の周辺の細胞において、PKC、PKA 依存的な修復増強反応を誘起していると考えられる。

腸を起点とした老化制御ネットワークの遺伝学的解析

* 山田 幸輝 (京都大学薬学研究科 生理活性制御学分野), 芥 真弓 (京大大学生命科学研究科 システム機能学分野), 平井 友梨 (京都大学薬学研究科 生理活性制御学分野), 谷口 喜一郎 (京大大学生命科学研究科 システム機能学分野), 井垣 達史 (京都大学薬学研究科 生理活性制御学分野 | 京大大学生命科学研究科 システム機能学分野)

キーワード: 老化, ショウジョウバエ, 腸

個体老化とは、加齢に伴う全身の生理機能の減退を指す。近年、個体老化を制御するコア経路 (インスリン、SIRT1、FOXO、mTOR シグナル伝達経路) が進化的に保存されていることや、細胞周期の不可逆的な停止現象である細胞老化が個体老化の一因であることが明らかとなった一方で、個体老化を制御する根本的なメカニズムはいまだ分かっていない。老化の根本的な理解には、老化を制御する細胞内シグナル伝達経路のみならず、生体内において老化を司る責任細胞を同定し、これを起点とする全身性の老化制御ネットワークを解明することが重要である。我々はこれまで、ショウジョウバエにおいて細胞老化のマスター制御遺伝子 *pointed* を同定するとともに、*pointed* 遺伝子の老化制御エンハンサー (AGE^{Pnt}) を同定し、老化に関連した *pointed* エンハンサー活性化細胞 (AGE^{Pnt} 細胞) をモニターするレポーターを開発した。興味深いことに、ショウジョウバエの加齢に伴って少数の AGE^{Pnt} 細胞集団が中腸後部領域に出現すること、また AGE^{Pnt} 細胞を遺伝的に除去すると個体寿命が延伸することが明らかとなり、この細胞は個体老化を正に制御する「老化責任細胞」である可能性が示唆された。そこで我々は、AGE^{Pnt} 細胞を起点とする全身性の老化制御ネットワークの解明を目指すことにした。現在、ショウジョウバエ中腸の遺伝子発現プロファイルデータベース (Fly-gut) をもとに、AGE^{Pnt} 細胞から産生される分泌因子を標的としたスクリーニングを進めている。本スクリーニングの結果、および AGE^{Pnt} 細胞を起点とした全身性の老化制御ネットワークについて議論したい。

A potential role of AP2A1 in cellular senescence via regulation of integrin translocation

* Pirawan Chantachotikul (Division of Bioengineering, Graduate School of Engineering Science, Osaka University), Shinji Deguchi (Division of Bioengineering, Graduate School of Engineering Science, Osaka University)

キーワード：AP2A1, senescence, fibroblast, stress fibers, integrin

With the progression of aging population, understanding the aging-related molecular mechanism and cellular senescence has become an important topic in innovative treatments. Cultured fibroblasts are commonly used as an in vitro model for aging studies by repeated subculturing. Here, we have demonstrated the change in stress fiber organization and stress fiber proteome of human fibroblast in the process of replicative senescence. We initially performed proteomic analysis of stress fiber fraction from young and senescent cells to analyze aging-dependent stress fiber proteins. We found that 63 proteins are up-regulated with replicative senescence, by which stress fibers become larger in width. Forty of them are proteins that are not known to be associated with stress fibers. Among them, we focused on adaptor-related protein complex 2, α 1 subunit (AP2A1) because it was highly up-regulated and is known to be involved in many biological processes. AP2A1 plays an important role in membrane trafficking that mediates clathrin-dependent endocytosis. We demonstrated that the up-regulation of AP2A1 in senescent cells associates with biomolecular and biophysical markers of cellular senescence. The over-expression of AP2A1 promoted cell senescence with an increase in cell size and stress fibers. In contrast, senescent phenotypes were reduced by knockdown of AP2A1. Additionally, we found that the cell senescence associates with a hyperadhesive cell phenotype, with large focal adhesions (FAs) and low motility. The above results led us to search for a link between integrin translocation via stress fiber-dependent endocytosis and cellular senescence. Senescent fibroblasts exhibited an increase in β 1 integrin translocation from intracellular space to focal contacts, leading to integrin cluster construction and reduction of FA turnover, and this hampered cellular motility associated with significant reorganizations of stress fibers. Taken together, the current data suggest that AP2A1 is involved in cellular senescence by regulating β 1 integrin translocation along stress fibers.

ストレスファイバーの張力恒常性のシステム論的理解

* 松元 瑛司 (大阪大学大学院基礎工学研究科), 松永 大樹 (大阪大学大学院基礎工学研究科), 出口 真次 (大阪大学大学院基礎工学研究科)

キーワード：ストレスファイバー, 張力恒常性, ターンオーバー, システム論

細胞が維持する力学的ストレスは慢性炎症誘発の一つの要因となることから, 近年細胞と物理学的な「力」の関係に着目した研究が行われている. 分裂能を有する哺乳類細胞は, β アクチンと非筋II型ミオシン (以降それぞれをアクチン, ミオシンと略す) から構成されるストレスファイバーを有し, これが細胞内において張力恒常性の状態を維持している. 我々のグループが行った実験観察より, (a) 細胞内張力はストレスファイバー内のアクチンとミオシンから成るサルコメアの特定の間隔に対し上に凸な関係があり (すなわち, 適切な長さで最大レベルの細胞内張力を発生し, その長さから変化すると細胞内張力は低下する), (b) 細胞内環境下において, その特定の間隔より長い領域ではアクチンやミオシンが結合し, 短い領域では解離する. つまり, サルコメアの間隔に依存したアクチンとミオシンのターンオーバーが生じ, その適切な間隔を取り戻して維持する振る舞いをする事が確認された. すなわち, ターンオーバーによりサルコメア間隔を調整することで適切な細胞内張力に維持し, 張力恒常性を有していることを意味する. 本研究では, この張力恒常性についてシステム論的な観点に基づいた理論的解析により, それが生じる基本メカニズムを提案する. 具体的には, ストレスファイバーの (アクチン長さやミオシン長さに関する) 構造的情報を説明する物理量を導入し, (a) と (b) の観察に基づいた理論的な定式化を行う. この理論モデルを解析し, 張力恒常性の実現のための必要条件やその振る舞いを特徴づける関係を導く. さらに, 張力恒常性を実現するシステムとして重要な要素を明らかにするため, 制御理論 (システムの関係を数学的に解析する学問) に基づき解析する. 最後に, 理論解析結果と実験結果を比較し, 張力恒常性メカニズムについて詳細な検討を行う.

LSR-KO 細胞が呈する細胞遊走亢進における GPCR の関与

* 幸野貴之 (札幌医科大学医学部附属フロンティア医学研究所細胞科学部門), 菊池真 (札幌医科大学医学部解剖学第一講座), 金野匠 (札幌医科大学医学部附属フロンティア医学研究所細胞科学部門), 小島隆 (札幌医科大学医学部附属フロンティア医学研究所細胞科学部門)

キーワード: 細胞遊走, 癌細胞, タイト結合, GPCR

上皮バリア機能の恒常性は、1 回膜貫通型タンパク質 LSR によるタイト結合タンパク質の制御によって維持されていることが明らかになりつつある。成熟した単層上皮細胞では、LSR は 2 細胞間タイト結合の末端部である隣接 3 細胞で囲まれた領域に局在する。この領域で LSR が 4 回膜貫通型タンパク質 Tricellulin の集積に関与することでタイト結合タンパク質の局在を統一的に制御し、安定な上皮バリアが構築される。これまでに我々は、子宮内膜癌の悪性化過程を解析するよいモデルである Sawano 細胞において、高分化型から低分化型への形態変化と、LSR が 3 細胞間領域から排除されることとが関連することを報告してきた。また、細胞が増殖・運動期から接触阻害期に至る過程においても LSR の局在変化が関連することを報告した。これらより、3 つの細胞が隣接する点領域に LSR が局在するときは増殖を停止した上で高度な上皮バリア機能が構築され、一方 LSR が 3 細胞間領域から排除され、2 細胞が辺で接する領域に局在するときは接触阻害機能が回避され、細胞増殖能と細胞運動能が亢進することが示されている。LSR が制御するこれら細胞機能を理解するために、Sawano 細胞において LSR ノックアウト (LSR-KO) 細胞を作成した。野生型、及び LSR-KO 細胞におけるタイト結合タンパク質の局在を共焦点顕微鏡により解析したところ、LSR-KO 細胞では Tricellulin は 3 細胞間領域に集積せずに 2 細胞間領域に局在した。一方、Occludin は野生型と同様に 2 細胞間領域に局在した。透過電顕による形態解析の結果、LSR-KO 細胞では、2 細胞間のタイト結合やアドヘレンス結合がほとんど構築されていなかった。経上皮電気抵抗値の測定より、LSR-KO 細胞は野生型と比較して顕著にバリア機能が低下した。Transwell® を用いた細胞遊走解析より、LSR-KO 細胞は野生型と比較して顕著に細胞運動能が亢進した。各種阻害剤を用いた解析より、この機能亢進には GPCR が関与することが示唆された。本会では、LSR-KO 細胞が細胞運動能を亢進させる機序について報告する。

自然免疫シグナルによるがん抑制型細胞競合の制御機構

* 掛村 文吾 (京都大学大学院生命科学研究所 システム機能学分野), 谷口喜一郎 (京都大学大学院生命科学研究所 システム機能学分野), 近藤周 (東京理科大学先進工学部 生命システム工学科), 斎藤都暁 (国立遺伝学研究所 無脊椎動物遺伝研究室), 井垣達史 (京都大学大学院生命科学研究所 システム機能学分野)

キーワード: 細胞競合, がん, 免疫

細胞競合とは、近接する細胞間の相互作用による細胞の排除現象である。近年、細胞競合はがん抑制的な機能を持つことが示唆されている。例えば、ショウジョウバエ上皮組織において極性遺伝子 *scribble* (*scrib*) を欠損した上皮細胞 (*scrib* 変異細胞) は単独では過剰に増殖し腫瘍化するが、その周囲に正常細胞が存在する場合には細胞競合によって上皮組織から排除される。これまでに我々は、*scrib* 変異細胞内で進化的に保存された自然免疫シグナルである Toll シグナルを活性化させると、*scrib* 変異細胞は細胞競合による排除を免れて過剰増殖するという現象を見出した。しかしながら、その詳細なメカニズムや、生体応答レベルでの自然免疫シグナルの活性化によっても細胞競合の破綻を介した *scrib* 変異細胞の腫瘍化が起きうるかは未だ明らかでない。今回我々は、ショウジョウバエ幼虫個体を真菌である *Aspergillus niger* へ暴露することで生体応答レベルでの自然免疫シグナル活性化を誘導した際、上皮組織での細胞競合が破綻して *scrib* 変異細胞の腫瘍化が起こることを見出した。さらにそのメカニズムとして、*scrib* 変異細胞における自然免疫シグナルの活性化は転写因子 NF κ B ホモログである Dorsal を介してショウジョウバエインスリン受容体 InR の発現量を亢進させること、および *scrib* 変異細胞におけるインスリンシグナルの亢進は細胞増殖制御因子 Yorkie/YAP の活性化を誘導し *scrib* 変異細胞の腫瘍化を引き起こすことを見出した。これらの結果は、がん抑制型細胞競合が感染因子の存在によって破綻するという細胞競合の新たな制御機構を提示するものである。

がん抑制型細胞競合のメカニズムおよびその新規制御因子の遺伝的解析

* 麥 瑞和 (京都大学大学院生命科学研究科), 祁 慎介 (京都大学大学院生命科学研究科), 城戸 明日香 (京都大学薬学部), 近藤 周 (東京理科大学先進工学部 | 国立遺伝学研究所), 齋藤 都暁 (東京理科大学先進工学部 | 国立遺伝学研究所), 小林 朋絵 (重井医学研究所), 松山 誠 (重井医学研究所), 谷口 喜一郎 (京都大学大学院生命科学研究科), 井垣 達史 (京都大学大学院生命科学研究科 | 京都大学薬学部)

キーワード: 細胞競合, JNK シグナル経路, 細胞死, がん抑制機構

ショウジョウバエ上皮組織において、極性遺伝子 *scribble* や *discs large*、あるいはエンドサイトーシス制御因子 *avalanche* (*avl*) や *Rab5* を欠損した変異細胞は単独では過剰増殖して腫瘍化するが、周囲を野生型細胞に囲まれるとアポトーシスにより排除される。がん抑制型細胞競合と呼ばれるこの現象は、TNF-JNK シグナル経路依存的に引き起こされることが分かっている。しかしながら、がん抑制型細胞競合において TNF-JNK シグナルを誘導するトリガー、そして変異細胞全体で活性化する TNF-JNK シグナルが野生型細胞との境界においてのみアポトーシスを誘導するメカニズムについては不明な点が多い。そこで我々は、CRISPR/Cas9 ノックアウトライブラリーを用いて、*avl* ノックダウン細胞が誘導する細胞競合を抑制する変異体の網羅的探索を行った。その結果、電位依存性カルシウム (Ca^{2+}) チャネルの補助サブユニット ($\alpha 2 \delta 3$) をコードする *stolid* を同定した。*avl* 変異クローンにおいて、*stolid* ホモ接合変異の導入または *stolid* ノックダウンを行うと、*avl* 変異細胞の排除が抑制された。さらなる解析により、*stolid* は JNK シグナルの下流でアポトーシス誘導に寄与している可能性が示唆された。重要なことに、ショウジョウバエゲノムに存在するもう一つの $\alpha 2 \delta 3$ ホモログ遺伝子 *straightjacket* のノックダウンも *avl* 変異細胞の排除を抑制した。本発表では、がん抑制型細胞競合における電位依存性カルシウム (Ca^{2+}) チャネルの寄与について考察したい。

発生過程において周期的に局在変化する転写因子のタイミング制御

* 石山 雄一郎 (東邦大学大学院理学研究科生物学専攻), 船江 聡子 (東邦大学大学院理学研究科生物学専攻), 山下 謙介 (東邦大学大学院理学研究科生物学専攻), 村本 哲哉 (東邦大学理学部生物学科)

キーワード: 振動, 細胞間接着, 集団運動, 転写因子

細胞分化や体節形成などの発生過程でみられる周期的な遺伝子発現は、生物の発生が正常なタイミングで進行するために重要である。発生・分化のモデル生物である細胞性粘菌 (*Dictyostelium discoideum*) は、飢餓状態になると単細胞から多細胞体を形成するが、この時、自律振動する cAMP の周期的な螺旋波 (cAMP 振動) を利用することで、決まった時間での多細胞体形成を実現している。この発生過程において、cAMP シグナルに応答し、核と細胞質間を約 6 分周期で局在変化する転写因子 *GtaC* が見つかった。さらに、*GtaC* とほぼ同じ発生時期において、周期的な局在変化する *MYB* 転写因子が新たに同定された。それぞれをノックアウトすると発生異常が見られたことから、周期的な動態を示す 2 つの転写因子は発生のタイミング制御に重要な分子だと考えられる。しかし、これらの転写因子によって制御される遺伝子が共通かどうかは不明である。そこで *MYB* の発現制御を受ける下流の遺伝子を解析したところ、*GtaC* と共通の遺伝子は少なく、異なる細胞間接着に関与している遺伝子が明らかになった。細胞同士の接着は、多細胞体形成時において見られる集団運動に必要な不可欠な要素である。本発表では、動的な振る舞いを示す転写因子によって生みだされる発生のタイミング制御について議論したい。

プロテオミクス解析による EphA2 チロシンリン酸化の検出と細胞質分裂への関与

* 長谷川 七海 (京都薬大・生化学), 北郷 真由絵 (京都薬大・生化学), 中山 祐治 (京都薬大・生化学)

キーワード: EphA2, チロシンリン酸化プロテオミクス解析

【目的】

セリン/スレオニンキナーゼによる細胞分裂制御機構はよく知られている一方で、チロシンキナーゼによる制御機構はまだよく知られていない。そこで、細胞分裂を後期へ同調し、チロシンリン酸化プロテオミクス解析を行なった。すると、細胞分裂への報告が少ない受容体型チロシンキナーゼである EphA2 が検出されたため、EphA2 に着目し、細胞質分裂における関与を調べた。

【方法】

ヒト子宮頸がん由来 HeLa S3 細胞に Eg5 阻害剤 STLC と可逆的 CDK1 阻害剤 RO-3306 を処理して細胞分裂を後期へ同調した。後期へ同調されているか確認するために、cyclin B1 や核膜を認識する lamin B1 を観察した。そして、それらの細胞を用いてチロシンリン酸化プロテオミクス解析を行った。解析結果の妥当性を示すために、検出された 115 種類のペプチドから EphA2、MPZL1、MAPK14、vimentin をウエスタンブロットで確認した。また、siEphA2 を導入してノックダウンを行い、多核細胞数を定量した。さらに Rho A の GEF として知られている Ect2 もノックダウンし収縮環形成を部分的に不完全にした。

【結果】

同調した細胞においても cyclin B1 の発現量低下、核膜の形成が確認された。プロテオミクス解析で検出された EphA2、MPZL1、MAPK14、vimentin はウエスタンブロットにおいてもチロシンリン酸化の亢進が確認された。EphA2 をノックダウンした細胞は対照群に比べて多核細胞数が増加傾向であった。また、Ect2 をノックダウンしても対照群に比べて多核細胞が増加した。興味深いことに、Ect2 と EphA2 を併用してノックダウンすると多核細胞が有意に著しく増加した。

【考察】

プロテオミクス解析で検出された 115 種類のペプチドから、まだ細胞分裂後期における役割が報告されていないペプチドは新規の細胞質分裂制御分子である可能性がある。その中でも EphA2 は、収縮環形成不全であるときにチロシンリン酸化が細胞質分裂実行に寄与する可能性がある。

肉芽腫深部で生じる好中球 S100A9 依存的マクロファージ M2 化機構の解明

* 水谷 龍明 (京都大学医生物学研究所), 阿野 敏明 (京都大学医生物学研究所), 水田 賢志 (長崎大学大学院医歯薬総合研究科), 竹本 経緯子 (京都大学医生物学研究所), 鶴山 竜昭 (京都大学大学院医学系研究科), 藤原 永年 (帝塚山大学), 森田 大輔 (京都大学医生物学研究所), 杉田 昌彦 (京都大学医生物学研究所)

キーワード: 好中球, マクロファージ, 慢性炎症, S100A9, 肉芽腫

結核感染で生じる肉芽腫は、マクロファージやリンパ球が高密度に集合することにより菌を物理的に封じ込め、炎症性サイトカインの発現や Th1 応答を介して菌の制御を効率的に行う生体防御応答と位置付けられている。しかしながら結核菌は、こうした炎症環境にも関わらず、肉芽腫中心部において年余にわたって生存することが知られており、その機構は未だ明らかではない。私たちは、肉芽腫中心部に存在する、「菌を許容する特殊な微小環境」を同定し、その形成を制御する分子機構を明らかにすべく研究を行った。はじめに、肉芽腫を構成するマクロファージ極性を免疫組織染色により分類した結果、肉芽腫中心部に M2 マクロファージを主体とした、菌を許容する特殊な微小環境が構築されることを見出した。さらに、肉芽腫組織を免疫原として得られたモノクローナル抗体のスクリーニングから、肉芽腫中心部を特異的に染色する抗体クローンを単離し、この抗体が 1) 肉芽腫中心部に集積した好中球を染色し、2) その認識抗原が S100 ファミリーメンバーである S100A9 (A9) であることを明らかにした。さらに、A9 の遺伝子欠損マウス (A9KO) を作出し、好中球とマクロファージ共培養細胞実験を実施し、A9KO 好中球による M2 誘導能が、野生型好中球に比べて減弱することを突き止めた。次に、好中球 RNA-seq を手がかりとして、M2 化に影響を及ぼす A9 シグナルを追及したところ、シクロオキシゲナーゼ 2 (Cox2) 発現が A9 依存的に生じ、Cox2 により産生されるプロスタグランジン E2 が M2 化を促進させることを明らかにした。最終的に、選択的 Cox2 阻害剤であるセレキシコブを肉芽腫モデル動物に投与すると、肉芽腫中心部の M2 マクロファージが消失された。したがって A9-Cox2 経路は、結核肉芽腫の「菌を許容する微小環境」を構築する、肉芽腫の秩序的形成に重要な経路である。

肺炎球菌の表層糖鎖を特異的に認識するガレクチンの結合様式に関する解析

* 古屋瑠菜 (国立感染症研・細 1 | 東京医歯大院・医歯学総合・分子病原体), 小川道永 (国立感染症研・細 1), 齋藤良一 (東京医歯大院・医歯学総合・分子病原体), 明田幸宏 (国立感染症研・細 1)

キーワード: ガレクチン, 肺炎球菌, オートファジー

肺炎球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) は鼻腔咽頭に常在し小児や高齢者では敗血症、髄膜炎など致命率の高い侵襲性感染を引き起こす。莢膜多糖に対するワクチンが定期接種化されているが、ワクチンを回避する菌や薬剤耐性菌の増加が顕著であることから、病原体固有の性質や宿主と病原体の相互作用に関する知見を蓄積することの重要性が増している。

現在までに我々は、細胞内に侵入した肺炎球菌は膜孔形成毒素ニューモリシンによりエンドソームに穴をあけることでエンドソーム内の酸性化を抑制し殺菌を回避するが、宿主因子が損傷エンドソームを特異的に認識し、選択的オートファジー (ゼノファジー) を誘導しエンドソーム内にとどまっている菌を分解することを報告している。このような膜損傷をターゲットとしたオートファジー誘導は肺炎球菌と類似の膜孔形成毒素を産生する菌の感染や、LLOMe や尿酸の結晶によるリソファジーにおいても観察されている。一方で、多様な病原体に対して個々を特異的に認識する宿主因子についての報告は少ない。

そこで本研究では細胞質へと離脱した肺炎球菌を特異的に認識する新規の宿主因子を見出すことを目的とし、N 末、C 末にそれぞれ特異性の異なる糖鎖結合ドメインを有するタンデムリピート型ガレクチンに着目した。その結果、組換えタンパクを用いた *in vitro* での肺炎球菌との結合解析において、特定のガレクチンが菌体表層分子と直接結合することを見出した。さらに、その結合性はガレクチンの糖鎖結合性欠失変異の導入で消失した。そこで、感染細胞においてガレクチンの局在解析を行った結果、損傷エンドソームとは別に菌特異的に局在する様子が見られた。さらに、菌とガレクチンの結合を肺炎球菌の病原因子が制御している可能性も示唆されていることから、今後はガレクチンによる菌体認識の感染における生理的意義を明らかにしていく。

マクロファージの貪食活性化におけるカルシウム透過チャネル TRPV2 の重要性

* 川勝薫平 (甲南大学大学院フロンティアサイエンス研究科), 勢田佳加 (甲南大学大学院フロンティアサイエンス研究科), 出川詩織 (甲南大学フロンティアサイエンス学部), 取井猛流 (甲南大学大学院フロンティアサイエンス研究科), 川内敬子 (甲南大学大学院フロンティアサイエンス研究科 | 甲南大学フロンティアサイエンス学部), 曾我部 隆彰 (生理学研究所 細胞生理研究部門 生命創成探究センター), 富永真琴 (生理学研究所 細胞生理研究部門 生命創成探究センター)

キーワード: マクロファージ, 貪食, TRPV2, カルシウムシグナル, 脂質ラフト

マクロファージの貪食能は、生体の恒常性維持に関わる重要な細胞機能である。ヒト血清を β -ガラクトシターゼとシアリダーゼで処理した serum-MAF は、マクロファージの貪食能を 5 分以内に増強させる。この貪食活性化は、刺激 30 秒後までに起こる Ca^{2+} 結合タンパク質である Annexin A2 の細胞膜直下への局在化、その後の脂質ラフト形成、アクチン再編成、細胞膜の ruffling 形成により達成される。本研究では、Annexin A2 の細胞膜局在を引き起こす貪食活性化シグナルの解明を試みた。

Annexin A2 は、 Ca^{2+} に依存して細胞内局在を変化させることから、まず THP-1 細胞由来マクロファージにおける serum-MAF 刺激直後の Ca^{2+} 動態を Ca^{2+} 指示薬を用いて観察したところ、刺激 1-2 秒後に細胞内 Ca^{2+} 濃度が約 1.5 倍に増大し、その後約 30 秒かけて元の濃度に戻る様子が見られた。細胞内 Ca^{2+} をキレートする BAPTA-AM 処理では脂質ラフト形成と貪食能に変化がなかった一方、細胞外 Ca^{2+} をキレートする EGTA 処理条件下では、脂質ラフトの消失と貪食能の阻害が見られた。これらの結果から、serum-MAF 刺激直後に起こる一過的な細胞外 Ca^{2+} の流入が、貪食活性化を引き起こすと考えられた。そこで、リガンド依存性 Ca^{2+} チャネルの候補となりそうな分子の阻害実験を行ったところ、広汎な TRP チャネル阻害剤 (SKF96365) で貪食能の阻害が見られた。TRPV2 は、DNA チップ解析の結果でも THP-1 マクロファージで高発現を示されたことから、TRPV2 拮抗剤 (Tranilast, Ruthenium red) で処理したところ、貪食能の阻害が見られた。以上より、serum-MAF の貪食能活性化は、TRPV2 依存的な細胞外の Ca^{2+} の流入により引き起こされることが強く示唆された。

SARS-CoV-2 の宿主細胞侵入機構の解析

* 藤岡容一朗 (北大・院医・細胞生理), 鬼塚洋之進 (北大・院医・細胞生理), 田村友和 (北大・院医・病原微生物), 柏木彩花 (北大・院医・細胞生理), 島田琉海 (北大・院医・細胞生理), 小澤史弥 (北大・院医・細胞生理), 福原崇介 (北大・院医・病原微生物), 吉田藍子 (北大・院医・細胞生理), 釜崎とも子 (北大・院医・細胞生理), 酒井信明 (北大・院医・細胞生理), 天野麻穂 (北大・院医・細胞生理), 大場雄介 (北大・院医・細胞生理)

キーワード: SARS-CoV-2, イメージング, エンドサイトーシス

我々はこれまで、蛍光イメージングを用いたシグナル伝達解析により細胞外環境変化に対する細胞応答に注目してウイルスの細胞侵入機構の研究を行ってきた。例えば、インフルエンザウイルスにより細胞内 Ca²⁺ 濃度が上昇し、エンドサイトーシスを介したウイルス粒子の細胞内取り込みが促進することを報告している (Fujioka et al., Nat. Commun. 2013; Cell Host Microbe 2018)。また我々は、SARS-CoV-2 の偽ウイルス粒子を高効率に産生する実験系を構築した (Fujioka et al., Cell Struct Funct 2022)。本研究では、その偽ウイルス粒子を用いて SARS-CoV-2 のエンドサイトーシスと膜融合を介した細胞内取り込み機構を解析した。ヒト肺癌由来 A549 細胞やヒト気道上皮由来 BEAS-2B 細胞では、マクロピノサイトーシスを抑制する PI3K 阻害薬 PI-103 により偽ウイルス粒子の取り込みが抑制された。一方、ヒト肝癌由来 HepG2 細胞やヒト肺癌由来 Calu-3 細胞では、膜融合を抑制するセリンプロテアーゼ阻害薬 camostat により抑制された。以上から細胞種によってウイルス取り込み経路が異なることが示唆された。興味深いことにマクロピノサイトーシスを抑制する Na⁺/H⁺ 交換輸送体阻害薬 EIPA は、両細胞群において抑制効果が見られた。Na⁺ 欠乏培地中では偽ウイルス粒子の HepG2 への取り込みが抑制されたことから、Na⁺ が SARS-CoV-2 の膜融合を介した取り込みに必要であることが示された。また、NHE の発現抑制によってもその取り込みが抑制された。さらに、感染性 SARS-CoV-2 の感染も NHE 阻害薬により抑制されたことから、NHE を介した Na⁺ ダイナミクスが SARS-CoV-2 の細胞内取り込みと感染に重要であることが示された。

Deficiency of TASL aggravates rheumatoid arthritis by regulating Th17 cell differentiation.

* Soyeon Jang (School of Life Science, BK21 FOUR KNU Creative BioResearch Group, Kyungpook National University, Daegu, 41566, Republic of Korea), Soyoung Jang (School of Life Science, BK21 FOUR KNU Creative BioResearch Group, Kyungpook National University, Daegu, 41566, Republic of Korea), Hyeng-Soo Kim (School of Life Science, BK21 FOUR KNU Creative BioResearch Group, Kyungpook National University, Daegu, 41566, Republic of Korea), Zae Young Ryoo (School of Life Science, BK21 FOUR KNU Creative BioResearch Group, Kyungpook National University, Daegu, 41566, Republic of Korea)

キーワード: Rheumatoid Arthritis, TASL, Th17, IL-17, Osteoclastogenesis

TLR Adaptor interacting with endolysosomal SLC15A4 (TASL) is located in the region of X chromosome inactivation and is required for IRF5 activation by TLR7, 8, and 9 signaling pathways. However, its exact function in autoimmune diseases involving TLR signaling is currently unknown. Therefore, the present study investigated the function of TASL in a mouse model of collagen-induced rheumatoid arthritis. The percentage of Th17 cells in the spleen of TASL knockout mice was higher than wild-type mice, but the percentage of Treg cells was not different. In addition, the proteins of CXCL12, ICAM-1, M-CSF, IL-1Ra, IL-17 and TNF α were significantly elevated in the serum of TASL knockout mice compared with wild-type mice. In the collagen-induced rheumatoid arthritis mouse model, it was confirmed that the rheumatoid arthritis phenotype was aggravated and the expression of TNF α , IL-6, IL-17A, and IL-23p19 in the spleen and joints were significantly increased in TASL knockout mice. Bone marrow-derived macrophages secreted high levels of TNF α and IL-6 upon stimulation with R837 in TASL knockout mice. In addition, a significant inverse correlation was observed between the expression of IL-17A and TASL in PMA/ionomycin-stimulated murine T cell line EL4. TASL plays a protective role in rheumatoid arthritis and is a novel target for the treatment.

Overexpression of cathepsin S aggravates lupus pathogenesis by regulating TLR7 and IFN-alpha.

* Yun Ki Lee (School of Life Sciences, BK21 FOUR KNU Creative BioResearch Group, Kyungpook National University, Daegu 41566, Republic of Korea), Zae Young Ryoo (School of Life Sciences, BK21 FOUR KNU Creative BioResearch Group, Kyungpook National University, Daegu 41566, Republic of Korea)

キーワード : Cathepsin S (CTSS), Toll-like receptor 7 (TLR7), Interferon alpha (IFN-alpha), Lupus, Autoimmune disease

Systemic lupus erythematosus (SLE), one of the chronic autoimmune diseases, affects multiple organs with several cytokine-induced major histocompatibility complex (MHC) class II. Recent research has shown that the cysteine protease cathepsin S (CTSS), a member of the cathepsin family, can influence MHC class II expression. Therefore, to research the function of CTSS in SLE, CTSS-overexpressing transgenic (TG) mice were generated. Without any outside stimulation, the TG mice developed exacerbated lupus-like symptoms after eight months. To determine whether the symptoms were similar to SLE symptoms, we treated both wild type (WT) and TG mice with pristane, which is known to cause SLE like symptoms in murine. After treating the mice, we observed elevated monocytes and neutrophils in WT mice with treatment and in TG mice with or without treatment, along with higher toll-like receptor 7 (TLR7) expression, especially in the spleen. Those lymphocytes were attracted by chemokines, which are produced by interferon alpha (IFN-alpha) signaling. In conclusion, overexpression of CTSS in mice promotes TLR7 expression, even increases a cytokine associated with autoimmune reactions, regulates IFN-alpha, and elevates the severity of lupus-like symptoms. Moreover, CTSS-overexpressing TG mice can play an important role in lupus model mouse studies and in therapeutic target studies.

Deletion of TASL regulates imiquimod-induced psoriasis like inflammation

* Ji yeong Park (School of Life Sciences, BK21 FOUR KNU Creative BioResearch Group, Kyungpook National University, Daegu 41566, Republic of Korea), Soyoung Jang (School of Life Sciences, BK21 FOUR KNU Creative BioResearch Group, Kyungpook National University, Daegu 41566, Republic of Korea), Hyeong-Soo Kim (School of Life Sciences, BK21 FOUR KNU Creative BioResearch Group, Kyungpook National University, Daegu 41566, Republic of Korea), Zae Young Ryoo (School of Life Sciences, BK21 FOUR KNU Creative BioResearch Group, Kyungpook National University, Daegu 41566, Republic of Korea)

キーワード : Autoimmune disease, Psoriasis, Inflammation, Keratinocyte, Imiquimod

TASL (TLR adaptor interacting with SLC15A4 on the lysosome), previously called as CXorf21 is recently defined as an endosomal TLRs signaling adaptor that mediates recruitment and phosphorylation of IRF5. Since TASL is an X-chromosome linked gene escaping X-chromosome inactivation, it has been suspected as a risk factor for autoimmune diseases. Although there are some predictive reports, accurate role of TASL on pathogenesis of autoimmune diseases have not been elucidated, yet. In this study the role of TASL in skin-related autoimmune disease, psoriasis was firstly identified using TASL knockout (KO) mice and IMQ-induced psoriasis model. TASL deficiency attenuated IMQ-induced psoriasis inflammation. Psoriatic lesions of TASL KO mice showed decreased epidermal hyperproliferation and differentiation and immune cell infiltration in dermis compared to wild type mice. In addition, activation of NF- κ B and MAPKs which is responsible for psoriasis-associated keratinocyte proliferation and inflammation were reduced in TASL KO mice. Also, TASL deficiency decreased IMQ-induced IRF5 phosphorylation as expected. To evaluate keratinocyte function, TASL knockdown HaCaT cell was used. Calcium differentiated HaCaT cell showed downregulated expression of involucrin, the regulator of epidermal skin barrier. Therefore, it suggests that TASL positively regulates IMQ-induced psoriasis through promoting the NF- κ B and MAPKs signaling pathways, as well as IRF5.

15:30-17:00 (2023-06-28 15:30 - 17:00 | ポスター会場)

P - D1 - P001 - 025

Serum amyloid A stimulates γ δ T cells and neutrophils to secrete IL-17 which affects bone density.

* Hee Young Chae (School of Life Sciences, BK21 FOUR KNU Creative BioResearch Group, Kyungpook National University, Daegu 41566, Republic of Korea), Zae Young Ryoo (School of Life Sciences, BK21 FOUR KNU Creative BioResearch Group, Kyungpook National University, Daegu 41566, Republic of Korea)

キーワード: serum amyloid A, IL-17, osteoclast, RANKL, inflammatory diseases

Serum amyloid A (SAA) is produced in liver and crucial to maintain inflammation. SAA stimulates the release of G-CSF, which causes neutrophilia and produce cytokines such as TNF α , IL-6, and IL-17. γ δ T cells, ILC3 cells, and neutrophils secrete IL-17, which provokes bone loss and inflammatory diseases including psoriasis, rheumatoid arthritis, and obesity. Bone loss occurs by increasing receptor activator of nuclear factor- κ B ligand (RANKL) secretion stimulating osteoclast differentiation. RANKL+ neutrophils were shown to contribute to osteoclastogenesis in vivo. Other studies have reported that chronic inflammation induces bone loss and then we observed increase of IL-17 expression level in innate immune cells such as neutrophils and γ δ T cells. In 6-month-old SAA1 overexpression transgenic (TG) mice, we observed decreased bone mineral density and expression of RANKL, IL-17, and osteoclast-related genes (tnfsf11 and ctsk) were significantly increased. Increased neutrophil as well as higher levels of RANKL and IL-17 expression on surface membranes indicated that neutrophils were heavily involved in bone loss in our TG mice. We concluded that chronic inflammation in 6-month-old TG mice induced an increase in osteoclast-related gene expression accompanied by an increase in IL-17. When SAA1 levels were decreased, inflammatory reactions caused by IL-17 and bone loss might be attenuated. We also showed SAA1-overexpressing TG mice are useful disease model for bone loss.

15:30-17:00 (2023-06-28 15:30 - 17:00 | ポスター会場)

P - D1 - P001 - 026

上皮と免疫細胞の時空間相互作用による生体恒常性維持

* 榎本 将人 (京都大学大学院生命科学研究科), 井垣 達吏 (京都大学大学院生命科学研究科)

キーワード: Tissue repair, Cell-cell interaction, Macrophage, Drosophila

上皮損傷の修復には、上皮細胞、間質細胞や免疫細胞など多様な細胞同士の相互作用が重要である。しかし、損傷上皮において個々の細胞がどのように相互作用し合い時間軸に沿って上皮機能・形態を還元していくのか、そのメカニズムは不明な点が多い。我々は最近、組織傷害を受けたショウジョウバエ上皮において損傷部位で活性化した JNK シグナルが TNF を介して上皮細胞間を伝播していく現象を見出した。この JNK シグナル活性の細胞間伝播を抑制すると、上皮の修復異常が引き起こされた。そこで、上皮傷害が駆動する JNK シグナル活性の細胞間伝播の役割を解析したところ、JNK シグナルは組織の広範囲に異所的な細胞死を誘導し、これによってマクロファージを損傷組織へと誘引させることが分かった。さらに、損傷組織に集積したマクロファージは上皮細胞と相互作用しながら細胞外マトリックス (ECM) を大規模に分解・再構築しながら組織修復を促すことが分かった。これらの結果は、損傷部位を起点とした JNK シグナルの細胞間伝播を介した上皮細胞とマクロファージの時空間相互作用が ECM のリモデリングを促すことで、損傷上皮が再び 3 次元構造を構築していくことを示唆している。

15:30-17:00 (2023-06-28 15:30 - 17:00 | ポスター会場)

P - D1 - P001 - 027

Delta variant of SARS-CoV-2 induces severe neurotropic patterns in K18-hACE2 mice

* GUNHEE LEE (Jeonbuk University)

キーワード: SARS-CoV-2, Delta (B.1.617.2), neurotropism, K18-hACE2, COVID-19

A highly contagious virus, severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, caused the coronavirus disease 19 (COVID-19) pandemic (SARS-CoV-2). SARS-CoV-2 genetic variants have been reported to circulate throughout the COVID-19 pandemic. COVID-19 symptoms include respiratory symptoms, fever, muscle pain, and breathing difficulty. In addition, up to 30% of COVID-19 patients experience neurological complications such as headaches, nausea, stroke, and anosmia. However, the neurotropism of SARS-CoV-2 infection remains largely unknown. This study investigated the neurotropic patterns between the B.1.617.2 (Delta) and Hu-1 variants (Wuhan, early strain) in K18-hACE2 mice. Despite both the variants inducing similar pathogenic patterns in various organs, B.1.617.2-infected K18-hACE2 mice demonstrated a higher range of disease phenotypes such as weight loss, lethality, and conjunctivitis when compared to those in Hu-1-infected mice. In addition, histopathological analysis revealed that B.1.617.2 infects the brain of K18-hACE2 mice more rapidly and effectively than Hu-1. Finally, we discovered that, in B.1.617.2-infected mice, the early activation of various signature genes involved innate cytokines and that the necrosis-related response was most pronounced than that in Hu-1-infected mice. The present findings indicate the neuroinvasive properties of SARS-CoV-2 variants in K18-hACE2 mice and link them to fatal neuro-dissemination during the disease onset.

Trypanosoma brucei の宿主自然免疫回避機構

* 後藤 芳邦 (帝京平成大学薬学部), 石毛 奈桜 (帝京平成大学薬学部), 野元 (松山大学薬学部), 辻本 雅文 (帝京平成大学薬学部), 中西 雅之 (松山大学薬学部)

キーワード: *Trypanosoma*, マクロファージ, 一酸化窒素, トール様受容体

アフリカトリパノソーマ症の原因となる *T. brucei* は、本乳類宿主血中において細胞表面を密に覆う変異表面糖タンパク質 (VSG) を周期的にスイッチング (抗原変異) することで宿主の獲得免疫を回避する。一方、本原虫の宿主自然免疫回避についてはほとんど明らかにされていない。今回、VSG を認識することで発動する宿主側の自然免疫と、寄生虫がその自然免疫を抑制する分子機構を見出したので報告する。

マウス腹腔マクロファージを可溶性 VSG (sVSG) で刺激した結果、インターフェロン β および γ 共存下において誘導性一酸化窒素合成酵素を介した NO 産生が認められた。また、トール様受容体 4 (TLR4) 遺伝子欠損マクロファージや組換え型 TLR4 と sVSG の共沈実験から、VSG の受容体が TLR4 であることを同定した。次に、多量の sVSG (30mg/1 kg-body weight) のマウス腹腔内に投与したところ、血中 NO 量が 2 倍上昇した ($30 \mu\text{M} \rightarrow 60 \mu\text{M}$)。一方、50-80 μM の NO は、*T. brucei* の増殖を抑制したが、死滅させなかった。

T. brucei は単細胞生物としては珍しく複合型糖鎖を有する。この N 型糖鎖をより原始的な高マンノース型へと変換したところ、sVSG と TLR4 の相互作用および NO 産生活性が 1.5 倍程度上昇した。また、通常、TLR4 とリガンドの親和性を上昇させる共受容体 MD2 が、sVSG と TLR4 の相互作用を抑制することを MD2 遺伝子欠損細胞を用いた解析から明らかにした。

以上の結果は、哺乳類宿主が VSG を介して *T. brucei* を認識し、自然免疫 (NO) で本原虫を排除しようとするが、*T. brucei* は糖鎖の宿主擬態と MD2 を逆利用してその自然免疫をすり抜けることを示唆する。

Nanog 過剰発現がん細胞由来の細胞外小胞が免疫系細胞に及ぼす影響

* 齊藤 美佳子 (東京農工大学 工学府 生命工学専攻), Celine Swee May Khoo (東京農工大学 工学府 生命工学専攻), 佐藤 藍梨 (東京農工大学 工学府 生命工学専攻), 片山 乃天 (東京農工大学 工学府 生命工学専攻), 櫻井 萌衣 (東京農工大学 工学府 生命工学専攻), 辺見 拓也 (東京農工大学 工学府 生命工学専攻)

キーワード: Nanog, 細胞外小胞, T 細胞, マクロファージ, 転移抑制

細胞外小胞 (EVs) は、遠隔の細胞も含めた細胞間コミュニケーションのメディエーターである。がん細胞では、EVs の分泌が促進され、血液を通して臓器に到達し、前転移ニッチの形成を促進することが知られている。しかし、先行研究では未分化因子である *Nanog* を過剰発現させたマウスメラノーマ細胞 (*Nanog*⁺F10) では、肝転移能が亢進したにも関わらず、*Nanog*⁺F10 由来の EVs (*Nanog*⁺F10-EVs) は肝臓への転移を抑制した。すなわち、*Nanog*⁺F10-EVs の転移抑制ワクチンとしての効果が示唆され、免疫細胞の関与が推察された。本研究は、この転移抑制効果における標的臓器の免疫細胞の関与を解析することを目的として、特に、細胞傷害性 T 細胞株 (CTLL-2) の細胞傷害性に与える影響、及びマクロファージ細胞株 J774.1 が *Nanog*⁺F10 の浸潤能に与える影響を解析した。

常法により *Nanog*⁺F10-EVs を単離し、蛍光標識 (CYTO RNASelect) 後、CTLL-2 細胞に添加し、37°C で 1 時間共培養した。セルソーターで *Nanog*⁺F10-EVs を取り込んだ CTLL-2 細胞を分取した後、LDH 細胞毒性アッセイを行い、細胞傷害性を算出した。その結果、*Nanog*⁺F10-EVs を取り込んだ CTLL-2 細胞は、コントロールに比べて細胞傷害性が増強した。一方、*Nanog*⁺F10-EVs を取り込んだ J774.1 細胞と共培養した *Nanog*⁺F10 の浸潤能は、コントロールに比べて低下した。以上より、*Nanog*⁺F10-EVs によって機能変化した細胞傷害性 T 細胞とマクロファージが相乗的にメラノーマに作用し、その転移を抑制したと推察された。他のがん細胞として、結腸がん細胞 (colon26) についてもあわせて報告する。

細菌感染におけるシグナル伝達因子 STING が制御する分解経路の解析

* 飯伏 純平 (京都大学大学院医学研究科微生物感染症学), 野澤 孝志 (京都大学大学院医学研究科微生物感染症学), 中川 一路 (京都大学大学院医学研究科微生物感染症学)

キーワード: A 群レンサ球菌, 自然免疫

自然免疫シグナル伝達因子である STING (stimulator of interferon gene) は、細胞内に侵入した細菌やウイルスに対する自然免疫・炎症応答のシグナル伝達を担う。

病原微生物の感染により細胞質に出現する環状ジヌクレオチドと結合した STING は、小胞体からゴルジ体へと細胞内局在が変化し、活性化することで I 型インターフェロンを誘導する。活性化 STING はリサイクリングエンドソームを経由して、リソソームで分解される。また STING は ATPase 依存的なオートファジーを誘導することで細菌やウイルスを分解することが報告されている。

STING の活性化およびインターフェロン誘導の詳細なメカニズムについての解析は進んでいるが、STING がゴルジ体からリソソームに至る細胞内輸送経路の制御分子、およびオートファジー誘導メカニズムについてあまり明らかではない。そこで活性化 STING の収束および病原微生物の分解にリソソームが関与することから、STING がリソソームへの輸送経路を制御すると予測し、そのメカニズムを明らかにすることを目的とした。

STING ノックアウト (KO) 細胞に A 群レンサ球菌 (Group A *streptococcus*; GAS) を感染させ、細胞内侵入率・生存率を検討したところ野生型細胞と変化はなかった。GAS の分解に重要であるオートファゴソームの形成率が STING KO 細胞で低下しており、感染初期から見られる損傷膜マーカーである galectin 3 の GAS へのリクルートも低下していた。GAS が細胞質に逃れずにオートファジーとは別の経路で GAS が排除されることが示唆された。また、EGF 刺激による EGFR の分解が STING KO 細胞で亢進していた。以上より STING はオートファジー経路とは異なる、リソソーム分解経路の制御に関与していることが考えられる。

クリックケミストリーを用いた貪食活性化における脂質ラフトの機能解析

* 出川詩織 (甲南大学フロンティアサイエンス学部), 川勝 薫平 (甲南大学大学院 フロンティアサイエンス研究科), 勢田 佳加 (甲南大学大学院 フロンティアサイエンス研究科), 上田 菜摘美 (甲南大学大学院 フロンティアサイエンス研究科), 長濱 宏治 (甲南大学フロンティアサイエンス学部 | 甲南大学大学院 フロンティアサイエンス研究科), 西方 敬人 (甲南大学フロンティアサイエンス学部 | 甲南大学大学院 フロンティアサイエンス研究科)

キーワード: マクロファージ, 脂質ラフト, 貪食, クリックケミストリー, 免疫

マクロファージの貪食能は免疫系において重要な機能であり、ヒト血清を β -ガラクトシターゼとシアリダーゼで処理した serum-MAF は、マクロファージの貪食能を 5 分以内に増強させる。この活性化では、刺激後 1 分以内に galectin-3 が細胞外に分泌され、受容体を集積した脂質ラフトを形成し、その後活発なアクチン再編成による細胞膜の複雑なラフリング構造 (Frill 様構造) を形成し、貪食を活性化する。本研究では、生体直交性クリック反応を利用して膜糖タンパク質を化学架橋し、脂質ラフトを人為的に形成させた際の貪食能を検討した。

生体直交性クリック反応とは、アジド基とアルキンの組み合わせのように、生理的条件下でも選択的に共有結合を形成する反応である。ヒト単球性白血球細胞株 THP-1 をアジド化 N アセチルガラクトサミンを含む培地中で培養し、糖鎖にアジド化ガラクトースを含むアジド化マクロファージを作製した。この細胞にアルキンの一種 DBCO を両端に持つ DBCO-PEG5-DBCO を反応させてランダムに膜タンパク質を架橋させたところ、Frill 様構造が形成され、貪食能の向上が確認された。このマクロファージでは、脂質ラフトマーカーの GM1 および貪食に関与する受容体 ITG β 2 の細胞膜上での点状の局在が確認されたことから、脂質ラフト形成およびレセプターの集積が起こっていると考えられるものの、galectin-3 の集積は見られなかった。この結果から、マクロファージの貪食能活性化には、特定のリガンドの結合ではなく、脂質ラフトの形成のみで十分であり、galectin-3 の役割も受容体を集積させることが主な役割だと考えられる。

今後、共有結合で形成された脂質ラフトを分画し、そこに含まれるタンパク質を MS 解析によって明らかにすることで、貪食の調節に関わるシグナル伝達の詳細を明らかにできると期待される。

A possible role of exosomal hydrolase receptors in the pathogenesis of the human intestinal parasite *Entamoeba histolytica*

* Herbert J. Santos (Graduate School of Medicine, The University of Tokyo), Tomoyoshi Nozaki (Graduate School of Medicine, The University of Tokyo)

キーワード: extracellular vesicles, pathogenesis, *Entamoeba histolytica*

Exosomes are 30 to 100 nm vesicles derived from endocytic compartments that are secreted extracellularly. Pathogenic organisms release exosomes mainly for intercellular communication, immune modulation, and virulence. Here we describe isolation, morphological and functional characterization of the exosomes and two membrane-spanning proteins from the human intestinal parasite *Entamoeba histolytica*. Negative staining transmission electron microscopy analysis of the extracellular vesicles purified from culture supernatant by sucrose gradient fractionation, verified the presence of exosomes of about 100 nm in diameter. The proteome analysis of exosome-enriched fraction revealed several membrane-spanning proteins including the cell surface metalloprotease GP63-2 and two members of the cysteine protease binding protein family (CPBF1 and CPBF8) to name a few. Amoebic CPBFs are hydrolase receptors that are functionally similar to sortilins. The detection of CPBF1 and 8 in exosomes is intriguing as these proteins are reported to be receptors of degradative enzymes (cysteine proteases, amylases, b-hexosaminidase and lysozymes) that allow their targeting to the lysosomes. Expression of HA-tagged CPBF1 and CPBF8 confirmed the presence of these membrane proteins in crude extracellular vesicle fractions. We also confirmed by blue-native PAGE analysis that CPBF1 forms a -200 kDa complex, suggesting it may form dimers similar to what has been reported in exosomal sortilins in mammals.

トリプトファンによる精子超活性化運動の促進

* 藤ノ木政勝 (獨協医科大学医学部先端医科学統合研究施設実験動物センター実験動物研究室)

キーワード: 精子, 受精能獲得, 超活性化運動, トリプトファン, ハムスター

トリプトファンは必須アミノ酸であると共に、生理活性物質の前駆物質である。トリプトファンから産生される生理活性物質としてセロトニンが知られる。セロトニンは哺乳類精子において受精能獲得（超活性化運動と先体反応）を惹起し、また体外受精の成績を向上させる作用を有する。ヒト精子においてトリプトファンヒドロキシラーゼが検出されたことから、ハムスター精子を用い、精子でトリプトファンからセロトニンを産生・分泌され、超活性化運動を促進させる可能性について検討した。その結果、ハムスター精子はトリプトファン濃度依存的に超活性化運動の促進が見られ、この作用はセロトニン受容体を介していた。また、トリプトファンによる超活性化運動の促進はトリプトファンヒドロキシラーゼ阻害剤の添加により阻害されたことから、トリプトファンによる作用はセロトニン産生を介して起こっていると考えられた。これらの結果から、ハムスター精子において、トリプトファンからセロトニンを autocrine する事によって超活性化運動を促進させると考えられた。従来、卵丘細胞でトリプトファンからセロトニンを合成し分泌され、この paracrine によって精子超活性化運動の促進も起こると考えてきた。今後は、卵丘細胞からの paracrine と精子自身の autocrine によるセロトニンが存在するとして、セロトニンの作用機序を考えていく必要がある。

核移行因子 KPNA1 の神経軸索における新規機能

* 水野 克俊 (福井大学学術研究院医学系部門), 菅原 将樹 (福井大学学術研究院工学系部門), 加藤 諒大 (福井大学学術研究院工学系部門), 野宮 廣貴 (福井大学学術研究院医学系部門), 伊藤 貴文 (福井県立大学生物資源学部), 藤田 聡 (福井大学学術研究院工学系部門), 山田 雅己 (福井大学学術研究院医学系部門)

キーワード: インポーチン, 軸索

主要な核移行因子である KPNA/Importin α は核移行配列 (NLS) を有するカーゴや KPNB1/Importin β 1 と三者複合体を形成し、核内へと輸送される。KPNA は多機能分子としても知られ、核移行と異なる様々な機能を持つことが近年示されてきている。また、*Kpna* 遺伝子変異は精神疾患の原因となり、神経機能において重要な役割を担うことが推測されている。我々は神経において強く発現する KPNA1 に着目した。我々のグループによる *Kpna1* ノックアウト (KO) マウス脳の遺伝子発現解析により、細胞質ダイニン構成因子など細胞骨格・運動に関連する遺伝子の発現が変動することが示された。さらに今回、神経細胞における多機能性に着目し、神経軸索における KPNA の機能解析を試みた。ラット大腿神経を用いた軸索成分に対する生化学的解析から、KPNA1 および KPNB1 や核移行関連因子が軸索中に豊富に存在し、微小管と結合することが示唆された。後根神経節細胞におけるライブイメージングにより、蛍光タンパク質を融合した複数種の KPNA および KPNB1 の挙動の解析を行い、KPNA および KPNB1 が順行 / 逆行方向に活発に移動し、分子モーター / 微小管関連因子 / 小胞関連因子と挙動を共にすることがわかった。さらに精神疾患関連変異を有する KPNA1 の挙動の解析から、変異 KPNA1 が神経細胞において局在を変化させることを示し、特定の配列付加により改善が見られることを示した。以上の結果から、軸索性の核移行因子が分子モーターを介した軸索の情報伝達に不可欠な役割を担っていることが強く推測される。

ブレブ形成・拡大を制御する分子機構の解明

* 藤井 悠貴 (九州大学大学院 システム生命科学府), 池ノ内 順一 (九州大学 理学研究院)

キーワード: ブレブ, 細胞運動, 細胞質

ブレブはアクチン細胞骨格による裏打ちが局所的に失われることにより生じる形質膜の球状突起構造である。一般的にブレブはアポトーシスや細胞分裂の際に観察される構造であるが、近年、始原生殖細胞やがん細胞などの運動性の高い細胞が、能動的にブレブを形成して、細胞の遊走 (アメーバ様運動) に用いていることが明らかになった。アメーバ様運動を行う細胞は、細胞前方にてブレブを繰り返し形成することで運動を行うため、このような細胞には目的の方向にブレブを効率よく形成するための分子機構が備わっていると考えられる。しかし、その詳細は未だ明らかでない。

ブレブの形成から退縮までの一連の過程の中で、ブレブの拡大は、細胞内圧によって形質膜が押されて膨らむ受動的な現象であると長らく考えられてきたため、ブレブの拡大を促進するメカニズムについてはほとんど解析がなされてこなかった。しかし近年、私たちの研究グループは、ブレブ形成中の細胞において、拡大期のブレブ内部に限局して細胞質の流動性が上昇していること、またその領域は他領域とは細胞質のタンパク質組成が異なることを見出した (Aoki et al. Nat Comm 2021)。このことは、細胞質を区画化し、局所的に流動性を制御することによってブレブの拡大を促進する分子機構の存在を示唆している。

そこで本研究では、ブレブ形成中の細胞内において、細胞質を区画化し、局所的な細胞質の流動性制御を担うことでブレブの拡大に寄与する分子機構の解明を目指し、ブレブ形成過程に機能的な新規因子の探索を行った。その結果、カルシウム・カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼ II (CaMKII) がブレブ形成過程において細胞質の区画化を担う重要な因子であることを発見した。本発表では、CaMKII がブレブ形成過程において果たす役割について、これまでに明らかになったことを発表する。

15:30-17:00 (2023-06-28 15:30 - 17:00 | ポスター会場)

P - D1 - P001 - 036

平滑筋形質膜機能分化の微細形態学的解析

* 田中 秀幸 (帝京大学医学部解剖学講座)

キーワード: 平滑筋, 形質膜, カベオラ密集領域, デンスプラーク領域, カルシウムストア

平滑筋組織形質膜は非常に特殊化していて、カベオラ密集領域とデンスプラーク領域に機能分化している。本発表においては、以前本学会誌 Cell Struct Funct 26:61-70 :2001 に報告した内容に追加し、デンスプラーク領域は細胞内外の張力伝搬を担い、カベオラ密集領域は、Ca ストアーを担うことをそれぞれのタンパク質抗体を用いた蛍光抗体多重染色法と電子顕微鏡観察で突き止めた。ラット結腸平滑筋を用いた共焦点レーザー顕微鏡による蛍光染色観察によって、ビンキュリン、タリン、パキシリン、プレクチン、インテグリンはデンスプラーク領域に局在し、対接する細胞形質膜の領域においても必ず、デンスプラーク領域が分布するという相補的位置関係を示していた。カベオラ膜領域においてはカベオリナー 1 と Ca ストアーで機能していると考えられカルレギュリン、sER-Ca-ATPase チャンネル (SERCA)、その他にも、ジストロフィン、LDL レセプターや IP3 レセプターの共局在も観察された。また平滑筋形質膜の機能分化の具体的証明においては発表者が独自に開発した光顕 (レーザー顕微鏡観察像)・電顕相関観察技法を用いて行なった。さらに、カベオラ密集領域がカルシウムストアを担う証明としてカルシウム局在を間接的に証明するペリアンチモン酸染色を行ない、その電顕観察像を提示する予定である。本発表においては、これらの報告に加え、ミオシンやミオシン軽鎖キナーゼ (MLCK) がカベオラ密集領域に収束化していることも報告する予定である。

15:30-17:00 (2023-06-28 15:30 - 17:00 | ポスター会場)

P - D1 - P001 - 037

KPNA1 遺伝子欠損マウスを用いた向精神薬誘発統合失調症モデルにおける遺伝要因と環境要因の相互作用 (G x E) の解析

* 野宮 廣貴 (福井大学医学部 分子生体情報学), 櫻井 航輝 (大阪大学 蛋白質研究所 高次脳機能学 | 大阪大学蛋白質研究所 機能・発現プロテオミクス研究室), 疋田 貴俊 (大阪大学 蛋白質研究所 高次脳機能学), 宮本 洋一 (医薬基盤・健康・栄養研究所 細胞核輸送ダイナミクスプロジェクト), 岡 正啓 (医薬基盤・健康・栄養研究所 細胞核輸送ダイナミクスプロジェクト), 山田 雅己 (福井大学医学部 分子生体情報学)

キーワード: KPNA / Importin α , 遺伝子-環境相互作用, 軸索輸送, モデルマウス, 統合失調症

KPNA/importin α は核-細胞質間の物質輸送を制御する因子である。近年、KPNA の遺伝子発現制御など核移行以外の細胞内機能も注目されている。特に KPNA1 は、短期認識記憶や不安行動の変化など精神症状との関連が報告されている。また、統合失調症患者を対象とした大規模遺伝子研究において、KPNA1 遺伝子の変異が報告されている。これらより、KPNA1 は精神疾患に深く関連するものと予想されるが、その因果関係は明らかではない。統合失調症患者で同定された KPNA1 変異は、従来の核移行シグナル認識領域の外側に位置しており、従来知られている核膜孔を介する核-細胞質間の能動的な物質輸送ではない未知なる機能の関与が示唆された。

一方、精神疾患の発症には遺伝要因と環境要因が関与し、統合失調症では幼少期におけるストレスや薬剤などの環境要因が、その発症に大きく寄与することが知られている。そこで私たちは、遺伝子-環境相互作用 (GxE) に着目し、幼少期の KPNA1 KO マウスに環境要因として統合失調症 (様) 症状を誘発する向精神薬フェンシクリジン (PCP) を投与した GxE 疾患モデルマウスを作製した。この疾患モデルマウスの有用性を評価するために、行動解析と網羅的遺伝子発現解析を行なった。

その結果、GxE 疾患モデルマウスでは統合失調症に関連する行動異常を示し、遺伝子発現解析では脳の特定位点である側坐核で統合失調症に特徴的な遺伝子発現変動が見られた。さらに、軸索輸送に関連する遺伝子の発現変動が見られた。これらより、KPNA1 は側坐核における PCP の感受性に関与し、統合失調症の発症に関与している可能性が示唆された。

今回の私たちの研究成果は、KPNA1 の新機能と統合失調症研究における GxE 疾患モデルマウスの有用性を示し、側坐核における軸索輸送の破綻が統合失調症の発症の背景にあることを示唆する。

15:30-17:00 (2023-06-28 15:30 - 17:00 | ポスター会場)

P - D1 - P001 - 038

骨格繊毛病の原因となる IFT81 の変異は Bardet -Biedl 症候群 (BBS) 様の繊毛の異常を引き起こす

* 田崎 晃司 (京都大学大学院薬学研究科 生体情報制御学分野)

キーワード: 一次繊毛, 繊毛病, IFT-B 複合体, IFT81

【背景・目的】 一次繊毛は外部シグナルを受容するアンテナとして機能する。繊毛内タンパク質輸送 (IFT) を媒介する IFT 装置を構成する複合体 (IFT-A、IFT-B、BBSome 複合体) のサブユニットの様々な変異によって、繊毛病と総称される遺伝性疾患が起こる。

本研究では繊毛内順行輸送を担う IFT-B 複合体のサブユニットの一つ IFT81 に着目し、短肋骨多指症候群 (SRPS) 患者に見られる IFT81 の複合ヘテロ接合性変異 (Δ 490-519 と L645*) に起因する繊毛病の分子基盤の解明を目指した。

【方法・結果】 IFT81 の各変異体と IFT-B 複合体の他のサブユニットとの相互作用を共免疫沈降法によって調べた。その結果、L645* 変異は IFT46-IFT52 二量体との相互作用を消失させ、 Δ 490-519 変異は IFT25-IFT27 二量体との相互作用を著しく減弱させることを見出した。

次に、IFT81-KO 細胞に IFT81 各変異体を発現させるレスキュー実験を行い、細胞の表現型を調べた。IFT81-KO 細胞は繊毛を全く形成しないが、L645* 変異体を発現させても繊毛形成は回復しなかった。 Δ 490-519 変異体を発現させると KO 細胞の繊毛形成は回復したが、繊毛 GPCR の排出に参与する BBSome 複合体と繊毛 GPCR の繊毛内での異常蓄積が見られた。また、 Δ 490-519 と L645* の変異体を共発現させた IFT81-KO 細胞も同様の異常表現型を示した。

【考察】 以上の結果から、SRPS 患者に見られる IFT81 の Δ 490-519 変異によって IFT-B 複合体と BBSome 複合体の共役異常、および繊毛 GPCR の排出異常が起こることが判明した。この異常表現型は BBS に特徴的であり、骨格繊毛病で見られる変異が BBS 様の異常を引き起こすことを示した初の例である。

15:30-17:00 (2023-06-28 15:30 - 17:00 | ポスター会場)

P - D1 - P001 - 039

微小管架橋因子 MTCL2 のゴルジ体局在機構の解析

* 八重樫 愛由 (横浜市立大学 生命医科学研究科 分子細胞医科学研究室), 島袋 仁菜 (横浜市立大学 生命医科学研究科 分子細胞医科学研究室),

鈴木 厚 (横浜市立大学 生命医科学研究科 分子細胞医科学研究室)

キーワード: 微小管, ゴルジ体, Giantin, CLASP, 細胞極性

近年我々は、ゴルジ体上で微小管を架橋する新しい微小管制御タンパク質 MTCL2 を同定した。MTCL2 はゴルジ体を足場にした微小管の非対称な集積に働くとともに、コンパクトなゴルジリボンの形成を促進することで細胞運動の極性化に必須な役割を果たしている。またこうした MTCL2 の機能が、小脳顆粒神経細胞の極性化過程後期で進む「多方向に発達した樹状突起の形成」にも必須であることも明らかとなっている。

MTCL2 は、中央のコイルドコイル (CC) 領域を介して多量体化し、C 末端の微小管結合領域を介して微小管の架橋に働く。そして、巨大 Golgin タンパク質 Giantin、およびゴルジ膜上に局在する + Tip、CLASP を必要とするそのゴルジ体局在には、N 末端側 CC 領域約 430 アミノ酸が関わっている。本研究では、MTCL2 のゴルジ体結合機構の解明を目指し、MTCL2 と Giantin、CLASP 2 との相互作用の解析を進めた。

まず、MTCL2 のゴルジ結合領域が Giantin、CLASP2 のいずれにも物理的に結合することが明らかとなった。さらに、Giantin に対しては、ゴルジ体から細胞質に長く伸びた先端に対応する N 末端側のコイルドコイル領域に、CLASP 2 に対してはそのゴルジ膜結合を担う GCC185 との相互作用部位に近い分子後半領域 (TOG3+CLIP ID 領域) に結合することが判明した。一方、CLASP1/2 ノックダウンが MTCL2 のゴルジ体局在を破壊するだけでなく、その逆の事象も観察されることも明らかになった。すなわち、ゴルジ体に局在する 2 つの微小管制御タンパク質 MTCL2 と CLASP が互いに互いのゴルジ体結合を制御し合っていることが判明した。発表当日はこれらの結果をもとにして、「2 種のゴルジタンパク質を必要とする MTCL2 のゴルジ体局在機構」に関するモデルを提示していきたい。

15:30-17:00 (2023-06-28 15:30 - 17:00 | ポスター会場)

P - D1 - P001 - 040

確率論的 Wnt 応答軟骨芽細胞の発生を起点とした縞状形態パターンニング機構の解明

* 中山 彰吾 (理化学研究所生命機能科学研究センター)

キーワード: 形態形成, 細胞運動, Wnt, scRNA-seq, ライブイメージング

私たちの体は 37 兆個という途方もなく多数の細胞から構成されている。発生過程において、これら多様な細胞の動態が厳密に制御され統合されることで、非常に複雑で均整の取れた“器官のかたち”は出来上がる。細胞運動・分裂・分化などの個々の細胞動態における分子機構の理解は年々深まってきている一方で、それらの情報がどのように統合され、複雑な器官の 3 次元形態を生み出すのかについて不明な点が多く、これらの理解は喫緊の課題であると考えられる。本研究で着目する気管は体外の空気中の酸素を体内へと取り入れるための通路として働く管状の器官である。気管の上皮組織は軟骨組織や平滑筋組織により支持されることで、適切な管腔構造を維持している。気管軟骨組織は横断面で見ると C 状の構造を呈するが、縦断面でみると軟骨の間隔に周期的なパターンを示す。Tracheal cartilaginous sleeve は軟骨が癒合することでこの周期的なパターンが破綻した気管のことで、呼吸異常を呈し、生命予後不良となる。このように気管軟骨の縞状パターンは呼吸器機能に重要な役割を持つことが知られているが、この周期的パターンを生み出すメカニズムに関して未だに謎が多い。そこで、我々は気管の形態形成過程における細胞動態を 1 細胞レベルで解析できる Organ-Live imaging を確立した。さらに経時的な気管組織の網羅的トランスクリプトーム解析を組み合わせることにより、気管発生初期でランダムに出現する Wnt 応答軟骨芽細胞が起点となり、細胞集団の運動を制御することで周期的パターンを生み出すことを見出した。これらの知見は不均一な多細胞集団がいかんして統一的に制御されることで、複雑な形態を生み出すのかに関する新たな見識を与えることが期待される。

15:30-17:00 (2023-06-28 15:30 - 17:00 | ポスター会場)

P - D1 - P001 - 041

単細胞緑藻類クラミドモナスの繊毛で新規に見つかった蛋白質合成系の解明

* 久保智広 (山梨大学医学部)

キーワード: 繊毛, 鞭毛, クラミドモナス, 鞭毛内輸送系, 蛋白質合成系

真核生物の繊毛 (鞭毛と同義) は細胞の運動性、生体内の水流形成、シグナル伝達機構などに重要な細胞小器官で、その異常はヒトにおいて「繊毛病」と総称される様々な疾患を引き起こす。したがって、その構築機構を解明することは基礎医学的に重要である。最近、マウスにおいて繊毛の内部に蛋白質合成系が存在する可能性が示唆された。チューブリンなどの繊毛蛋白質が繊毛内で合成され、それらが繊毛の構築や維持に寄与しているという考えである。しかし、これまで繊毛の構築は主として鞭毛内輸送系 (Intraflagellar transport; IFT) という分子モーターが担う系だけに依存するものと考えられてきた。そこで本研究では、2 本の繊毛を持つ単細胞緑藻類クラミドモナスを用いて、繊毛内に蛋白質合成系が存在するのかどうか、存在する場合は、それが繊毛の構築にどのような意義を持つかを明らかにすることを目的とした。まず、ピューロマイシン標識法という方法を用いて、新規に合成されるポリペプチド鎖を生化学的に検出したところ、驚くべきことに単離した繊毛は確かに蛋白質合成能を持つことが分かった。間接蛍光抗体法によって、ピューロマイシン標識蛋白質およびリボソーム RNA の局在を特定したところ、蛋白質合成系を示すシグナルが繊毛の全長に渡って約 1.2 μm の周期性で 10 個程度存在することが分かった。また、単離した繊毛は 1 mg あたり約 3 μg の total RNA が含まれていることが分かった。予備的な結果ではあるものの、リボソーム蛋白質の一種 RPL4 を欠損した変異株から単離した繊毛は、蛋白質合成能が著しく低下しており、繊毛の再生速度が減少していることが分かった。これらの結果から、繊毛内に蛋白質合成系が確かに存在すること、さらにこの仕組みは真核生物に広く保存された機構であることが示唆される。

シューティン 1b と N- カドヘリンの相互作用を介した神経細胞移動機構の解析

* 上 宗馬 (奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域 神経システム生物学研究室), 嶺岸 卓徳 (奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域 神経システム生物学研究室), 稲垣 直之 (奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域 神経システム生物学研究室)

キーワード: 神経細胞移動, クラッチメカニズム, シューティン, N- カドヘリン

脳の形成過程で神経細胞はその産生領域からそれぞれの目的地まで移動する必要がある。移動中の神経細胞は細胞接着分子を介して接着基質と相互作用しながら移動する。細胞接着分子 N- カドヘリンは神経細胞移動を促進するが、その駆動力発生の分子機構は明らかにされていない。最近、当研究室で同定されたシューティン 1b が移動する抑制性神経細胞で発現し、細胞先端でアクチン線維と細胞接着分子 L1-CAM を連結することでアクチン逆行性移動の力を細胞外基質に牽引力として伝える分子機構「クラッチメカニズム」が報告された。そこで、本研究では N- カドヘリンのシューティン 1b を介した神経細胞移動機構の解析を行った。まず、抑制性神経細胞の移動をコントロール基質上と N- カドヘリンをコートした基質上で比べることで、N- カドヘリンが移動を促進することが確認された。次に、N- カドヘリンによる神経細胞移動においてクラッチメカニズムが機能するかを検証するため、コントロール基質上と N- カドヘリンをコートした基質上での細胞先端におけるアクチンの逆行性移動と牽引力を比べた。その結果、N- カドヘリン接着においてクラッチメカニズムが機能し、アクチンの逆行性移動が抑制され、牽引力産生が促進されることが示唆された。そこで、N- カドヘリンによる神経細胞移動へのシューティン 1b の関与を検証した。最初に、共免疫沈降によりシューティン 1b と N- カドヘリンの相互作用が明らかとなった。続いて、免疫細胞染色により両分子が細胞先端で共局在することも確認された。さらに、N- カドヘリンをコートした基質上での野生型とシューティン 1 ノックアウト神経細胞の移動を比べることで、シューティン 1 の欠損が移動を抑制すると分かった。以上の結果から、シューティン 1b と N- カドヘリンの相互作用がクラッチメカニズムにより牽引力を産生し、神経細胞移動を駆動する可能性が示唆された。

Rac の不活化因子 FilGAP は乳がん細胞の浸潤突起形成を抑制する

* 齊藤康二 (北里大学 理学部 生物科学科), 小澤咲乃 (北里大学 理学部 生物科学科), 千葉陽介 (北里大学 理学部 生物科学科), 高橋留梨 (北里大学 理学部 生物科学科), 尾籠遼也 (北里大学 理学部 生物科学科), 向井康治朗 (東北大学大学院 生命科学研究所), 田口友彦 (東北大学大学院 生命科学研究所), 畠山裕康 (北里大学 医学部 生理学), 高橋倫子 (北里大学 医学部 生理学), 太田安隆 (北里大学 理学部 生物科学科)

キーワード: 浸潤突起, 乳がん, Rho small GTPase, Rac, GAP

がん細胞は浸潤、転移の初期過程で浸潤突起とよばれる突起構造を形成し、細胞外基質 (ECM) を分解することで組織内に侵入する。浸潤突起の形成には Rho small GTPase が関与しており、アクチン細胞骨格の再編成を通じてその形成を制御している。しかし浸潤突起で Rho small GTPase の活性が制御される分子機構は不明な点が多い。本研究では、Rac の不活化因子である FilGAP が乳がん細胞の浸潤突起の形成に抑制的に働いていることを明らかにした。まず、乳がん細胞で FilGAP の発現を抑制すると ECM 分解が促進された。逆に FilGAP の過剰発現は ECM 分解を阻害した。ECM 上の乳がん細胞で FilGAP の細胞内局在を観察したところ、浸潤突起に局在していた。そこで次に FilGAP の浸潤突起形成への関与を調べた。その結果、FilGAP の発現抑制によって浸潤突起の形成は促進された。さらに、乳がん細胞に EGF を添加して浸潤突起の形成を誘導する実験を行った。EGF の添加による浸潤突起の形成は FilGAP の発現を抑制すると促進され、その過剰発現によって阻害された。一方、Rac を不活化できない FilGAP の優性阻害型変異体を過剰発現させると発現抑制同様に浸潤突起の形成は促進された。最終的に、浸潤突起における FilGAP の局在制御機構の解析を行った。FilGAP はその PH ドメインで細胞膜 PI (3,4)P2 と結合する。PI (3,4)P2 と結合できない FilGAP の変異体は通常の FilGAP に比べて浸潤突起への局在化が著しく低下した。加えて、細胞膜の PI (3,4)P2 の生成量を減少させても FilGAP の浸潤突起への局在化は低下した。以上の結果より、FilGAP は乳がん細胞において PI (3,4)P2 を介して浸潤突起に局在し、Rac を不活化することで浸潤突起の形成を抑制していることが示唆された。

15:30-17:00 (2023-06-28 15:30 - 17:00 | ポスター会場)

P - D1 - P001 - 044

アクチン指紋突起構造 Microridges 形成における I-BAR domain タンパク質の役割

* 稲葉泰子 (奈良先端科学技術大学院大学), 中村 葵 (奈良先端科学技術大学院大学), 長岡 龍也 (奈良先端科学技術大学院大学), 別所 康全 (奈良先端科学技術大学院大学)

キーワード: アクチン, 細胞骨格, 粘膜上皮, 突起構造, ゼブラフィッシュ

Microridges はアクチンからなる一細胞レベルの迷路状の突起構造であり、サルの頬内側、マウスの角膜上皮など粘膜上皮で広くみられる。Microridges はまず点状の突起構造 Peg として出現し、Peg 同士が繋がり長い指紋状の Microridges へと形成が進む。Peg は細胞内をランダムに動き回るが、長い Microridges になると動きが消失し安定な構造となる。Microridges は安定的な構造と動的な点状の Peg へ数分間に Peg と Microridges を行き来するユニークな構造である。

Microridges 形成の分子メカニズムについて、細胞骨格であるケラチンや、細胞骨格同士をつなぐリンカー分子 Plakin がその形成に関与することが少しずつ明らかとなったが、Microridges 構造の膜形成制御メカニズムは不明のままである。本研究では膜形成制御分子である BAR-domain 含有タンパク質に着目し、CRISPR/Cas9 による FO アッセイを行ったところ、I-BAR domain タンパク質の一つが Microridges 形成に重要な役割をすることを見出した。I-BAR domain タンパク質のノックアウトゼブラフィッシュを作製し、I-BAR domain タンパク質が Microridges 形成の中期段階で Microridges 形成に必須であることを見出した。さらに、I-BAR domain タンパク質は Microridges に局在し、過剰発現させると Microridges が長く伸長することから、I-BAR domain タンパク質が積極的に Microridges の膜形成制御に関与することが考えられる。I-BAR domain タンパク質の各 domain を用いたレスキュー実験を行っており、Microridges の膜形成制御を担う詳細な分子メカニズムが明らかになると期待できる。

15:30-17:00 (2023-06-28 15:30 - 17:00 | ポスター会場)

P - D1 - P001 - 045

骨格筋に発現する非筋型ミオシン IIC の役割

* 眞鍋康子 (東京都立大学), 濱口裕貴 (東京都立大学), 平岡詩乃 (東京都立大学), 笹田智暉 (東京都立大学), 古市泰郎 (東京都立大学), 藤井宣晴 (東京都立大学)

キーワード: 骨格筋, 非筋型ミオシン, 遅筋, 筋萎縮

【背景】 骨格筋細胞におけるミオシンは一般に骨格筋型ミオシンのことを意味し、動きを生み出す収縮タンパク質としての役割を担っている。一方、同じミオシンファミリーに属する非筋型ミオシン II (non muscle myosin:NMII) には 3 種類のアイソフォーム (IIA, IIB, IIC) があり、細胞の種類を問わず遍在している。これらは骨格筋にも発現しているが、その詳細な役割は明らかになっていない。これまでの我々の研究から、NMIIA, IIB は未熟な筋細胞に高発現する一方で、NMIIIC は成熟した筋管や筋線維で発現が増加することが明らかとなった。そこで本研究では、成熟骨格筋細胞における NMIIIC の発現様式及び、その役割を検討した。

【方法】 マウスから、遅筋代表としてヒラメ筋、速筋代表として長趾伸筋を摘出し、各筋組織における NMIIIC の発現量を比較した。また、尾部懸垂により萎縮させたヒラメ筋、持続的運動トレーニングを負荷した筋、および高齢マウスの筋を用いて NMIIIC の発現変動を調べた。さらに、NMIIIC ノックアウトマウスを用いて骨格筋形態と発揮張力を測定し、筋の収縮機能との関係を検討した。

【結果と考察】 NMIIIC の発現量は、ヒラメ筋で長趾伸筋にくらべて有意に多かった。また、尾部懸垂により萎縮させたヒラメ筋では NMIIIC 発現量が有意に減少したが、運動トレーニングによる変化はなかった。興味深いことに高齢マウスの腓腹筋では遅筋線維の増加に伴い NMIIIC 発現量が有意に増加した。さらに、NMIIIC ノックアウトマウスを用いて、ヒラメ筋の筋線維サイズ、および筋張力を測定したが、いずれにおいても有意な変化は観察されなかった。以上の結果から、NMIIIC は遅筋線維の量の変動と関連し、何らかの役割を有していることが示唆された。

15:30-17:00 (2023-06-28 15:30 - 17:00 | ポスター会場)

P - D1 - P001 - 046

両生類無尾目・有尾目幼生の消化管末端部の内腔の繊毛の分化と繊毛運動について

* 金海香 (神奈川大学大学院理学研究科生物科学領域), 茂木和枝 (神奈川大学総合理学研究所), 豊泉龍児 (神奈川大学大学院理学研究科生物科学領域 | 神奈川大学総合理学研究所)

キーワード: 繊毛, cloaca, Xenopus, イモリ, 消化管

真正後生動物は別名で有腸動物 (Enterozoa) とよばれ、消化管をもつ。多くの真正後生動物では口とは別に排泄口が開く。消化管の系統進化を理解するためには、比較発生学的なアプローチで消化管末端部 (以下、総排泄腔) の分化を研究することがその一助となると我々は考えている。両生類のモデル生物である無尾目アフリカツメガエル幼生の総排泄腔は透明度の高い正中鰭の腹側を走行する透明な管で、非侵襲的に観察し易い。ツメガエル幼生の総排泄腔に繊毛が分化することが古い研究から知られている (Fox, 1970)。我々は、個体発生におけるそのタイムコースを知るために、anti-acetyl alpha-tubulin 抗体を用いた蛍光免疫組織化学法によってツメガエル幼生期の総排泄腔の内腔の繊毛の分化を調査した。幼生体表面の表皮に multi-cilia が豊富な stage 41-42 までは総排泄腔に繊毛は殆どなかった。その後、総排泄腔内で分化する繊毛細胞が漸増し、幼生表皮から急速に multi-cilia が失われる stage 45-47 では、それと入れ替わりに、総排泄腔の内腔に multi-cilia 細胞が分化し密集していた。水浸レンズを装着した生理学用顕微鏡に hi-speed カメラを装着して stage 47 幼生の総排泄腔の繊毛打を観察したところ、総排泄腔の開口部に向けた multi-cilia 細胞の繊毛打が観察され、総排泄腔の内腔上皮に平面内細胞極性があることが示唆された。有尾目のイベリアトゲイモリ幼生についても調査したところ、排泄口に向けた繊毛打が観察された。これらの結果から、我々は、両生類の総排泄腔の内腔上皮には平面内細胞極性が確立し、それに従って内腔上皮中の multi-cilia 細胞の繊毛打の極性が決まると考えている。今後は、総排泄腔の平面内細胞極性を決める因子を同定していきたいと考えている。

15:30-17:00 (2023-06-28 15:30 - 17:00 | ポスター会場)

P - D1 - P001 - 047

A role of membrane tension in osteoclast fusion

* WAN YUMENG (神戸大学医学研究科医科学 バイオシグナル総合研究センター)

キーワード: cell fusion, plasma membrane tension, membrane cortex attachment, ERM proteins, BAR proteins

Cell fusion is important for many physiological processes such as osteoclastogenesis. Cell fusion is accompanied by actin-rich plasma membrane (PM) protrusions. It is suggested that cell membrane mechanics plays an essential role in regulating membrane protruding structures. However, its role in cell fusion remains unexplored. Here, we investigated the role of PM tension, regulated by membrane-cortex attachment (MCA), in osteoclast fusion. We found that prior to cell fusion, the expression of ezrin, a key regulator of MCA, was decreased, resulting in reduced PM tension. This decrease in PM tension is required for osteoclast fusion. We are currently investigating the mechanisms by which PM tension regulates cell fusion by focusing on BAR proteins that induce and sense membrane curvature.

15:30-17:00 (2023-06-28 15:30 - 17:00 | ポスター会場)

P - D1 - P001 - 048

両生類幼生における腸管の巻きの形態形成

* 吉本 菜歩 (神奈川大学大学院理学研究科生物科学領域), 秋永 薫 (神奈川大学総合理学研究所), 茂木 和枝 (神奈川大学総合理学研究所), 安積 良隆 (神奈川大学大学院理学研究科生物科学領域 | 神奈川大学総合理学研究所), 豊泉 龍児 (神奈川大学大学院理学研究科生物科学領域 | 神奈川大学総合理学研究所)

キーワード: 消化管, ツメガエル, 両生類, 平滑筋, 神経

脊椎動物の腸管は、蠕動運動を担うための平滑筋構造をもつ左右非対称な消化管である。しかし、実際の左右非対称な腸管の形が出来るメカニズムについてはいまだ解明されていない部分が多い。我々は腸管平滑筋の actomyosin 系の収縮活性が腸管の巻きの形態形成に必要であると考え、以下の実験を行った。両生類無尾目のアフリカツメガエル幼生は、初期幼生の腹側表皮や腹筋が透明のため腸管の観察が容易である。そこで、ツメガエル幼生の腸管の平滑筋がどのように分化していくのかを調べた。その結果、腸管の平滑筋は最初に十二指腸領域で横断方向に配向し、次に同領域の長軸方向にも配向し、次第に格子状の分布を拡張するが、腸管の巻きの中心では平滑筋の格子構造の振れが生じることが判明した。傷口修復能が高い尾芽胚期に断頭して中枢神経系の支配を除いても腸管は組織自律的に巻いた。また、腸管を単離し、培養実験系の作出を試み、in vitro で単離腸管が巻くことを成功させた。その器官培養系を用いて actomyosin の収縮を様々な段階で阻害する薬剤や Wnt 経路の阻害剤を投与したところ、腸管の巻きの減弱した。これらの結果より、腸管の巻きの形態形成には actomyosin の収縮と平滑筋特異的 actin のフィラメントの形成とその配向が必要であることが示唆された。加えて、腸管の蠕動運動に必要な神経叢の観察を行ったところ、腸管の発生に従って密度を増しながら長軸方向に多数の神経軸索が走行し、長軸方向に配向した神経軸索間にブリッジが形成されていた。一方で、ツメガエルとは異なり腸管の巻きの乏しく長期にわたり消化管が直走する有尾目イベリアトゲイモリ幼生の腸管では、網目状の神経叢が張り巡らされており、ツメガエル幼生腸管とは全く異なるパターンの神経叢が見られた。今後は腸管神経叢が腸管の巻きの形態形成に関与するのかを調べることを考えている。

15:30-17:00 (2023-06-28 15:30 - 17:00 | ポスター会場)

P - D1 - P001 - 049

Role of actin regulators in SARS-CoV-2 induced cell fusion

* KOU LINTING (神戸大学医学研究科医科学 バイオシグナル総合研究センター)

キーワード: cell fusion, actin regulators, SARS-CoV-2, Rho family proteins, BAR proteins

In novel coronavirus infection (COVID-19), cell fusion mediated by SARS-CoV-2-derived spike protein has been reported to correlate with clinical symptoms such as severe pneumonia. However, the role of actin regulators in their formation is elusive. Here, we found that Rho family proteins play a key role in the regulation of spike induced cell fusion. Moreover, we performed an RNAi screening for BAR proteins, which are interfaces between membrane curvature and these actin regulators, and identified several BAR proteins involved in cell fusion. This study suggests that dynamic changes in local Rho protein activity beneath the curved membranes by BAR proteins is important for the regulation of spike induced cell fusion, and that these regulators could be therapeutic targets against COVID-19.

15:30-17:00 (2023-06-28 15:30 - 17:00 | ポスター会場)

P - D1 - P001 - 050

微小管結合タンパク質 Camsap3 は卵胞成熟において卵母細胞と顆粒層細胞を繋ぐ架橋構造の維持に役割を果たす

* 相川皓洋 (早稲田大学 先進理工学研究科 生命医科学), 都筑花那子 (早稲田大学 先進理工学研究科 生命医科学), 佐治園子 (早稲田大学 先進理工学研究科 生命医科学), 伊藤潤哉 (麻布大学・獣医学・動物応用科学 | 麻布大学・ヒトと動物の共生科学), 戸谷美夏 (早稲田大学・国際理工学・Bioscience), 佐藤政充 (早稲田大学 先進理工学研究科 生命医科学 | 早稲田大学・構造生物・創薬研)

キーワード: microtubule, follicle development, fertility, Camsap3

卵母細胞は周りを囲む顆粒層細胞と複合体を形成し、卵胞として卵巣内で成熟する。卵胞の成熟過程では、顆粒層細胞から卵母細胞に栄養を送るための突起 (Transzonal Projections; TZP) を形成する。TZP は主にアクチンで構成されており、フィロポディアの性質を持つ。TZP においては微小管が稀にアクチンと共局在することが知られるが、そのような微小管の編成や役割は不明である。

我々は、微小管マイナス端結合タンパク質 Camsap3 の機能を失ったメスマウスから産仔が得られないとの知見を得ていた。Camsap3KO マウスにおける不妊の原因を本研究で追究したところ、Camsap3 が TZP 内の微小管構造の維持に寄与し、卵胞成熟に必要な因子であることを見いだした。

Camsap3KO マウスに過排卵処理を施したところ、卵母細胞がほとんど回収されず、排卵が行われないことがわかった。卵巣内での卵胞成熟を調べるため、ヘマトキシリン染色した卵巣切片の観察を行った結果、Camsap3KO マウスにおいては、成熟した卵胞であるグラーフ卵胞の数が野生型マウスに比べて減少した。この結果は、Camsap3KO マウスでは卵胞の成熟機能が低下していることを示唆している。野生型マウスの卵胞における Camsap3 の局在を調べた結果、Camsap3 は、TZP の根元や TZP が内包する微小管上に観察された。Camsap3 が微小管のマイナス端に結合して微小管の構造を安定化する因子であることから推測して、Camsap3 は卵胞における TZP の構造維持に寄与すると考えた。

15:30-17:00 (2023-06-28 15:30 - 17:00 | ポスター会場)

P - D1 - P001 - 051

Quantitative analysis of Paxillin dynamics measured by live-

* 楊 雅婷 (京都大学 医学研究科)

キーワード: SiMS, dynamic, paxillin

To clarify dynamics of paxillin and how phosphorylation signals affect it, we performed Single-molecule speckle (SiMS) microscopy, which is a powerful approach to reveal the rapid response to extracellular stimuli. To address the question how tyrosine phosphorylation affects on paxillin behavior and turnover, we examined molecular motions of paxillin upon serum stimulation that induce tyrosine phosphorylation of FA proteins. We compared paxillin SiMS regression kinetics before and after the serum treatment. The dissociation rate of paxillin SiMS increased after the serum treatment, suggesting that tyrosine phosphorylation of paxillin enhances the turnover of paxillin. Our findings provide new insights into regulatory mechanisms of paxillin by tyrosin phosphorylation signaling.

上皮細胞が移動能を段階的に獲得する機構の解明

* 稲木美紀子 (大阪大学・院理・生物科学), 矢田健吾 (大阪大学・院理・生物科学), 松野健治 (大阪大学・院理・生物科学)

キーワード: 細胞移動, 上皮間葉転換, ショウジョウバエ, JAK/STAT

上皮細胞は、様々な組織を構成する層状の構造をとる細胞集団で、通常は移動性をもたない。発生過程では、適切な場所およびタイミングで移動能を獲得し、必要とされる領域まで移動する。この制御が不能になると形態異常やがんの転移といった病態を引き起こす。本研究では、ショウジョウバエ卵巣のボーダー細胞をモデル系として、上皮細胞が移動能を獲得する機構を解明し、それを制御することを目的とする。ボーダー細胞は、上皮組織から分化し、上皮細胞層から離脱して、集団で細胞移動する。ボーダー細胞の分化は JAK/STAT シグナル伝達経路の活性化により誘導される。JAK/STAT の下流では、CEBP 転写因子ファミリーの一員である Slbo タンパク質が働いており、JAK/STAT による移動性の誘導は、全て Slbo タンパク質を介してなされていると考えられてきた。しかしながら、我々のライブイメージングを用いた解析により、*slbo* 突然変異体のボーダー細胞は、組織内へ浸潤しないが、運動性は獲得し、JAK/STAT を阻害したボーダー細胞分化領域に Slbo タンパク質を強制発現させると、浸潤性のある突起を伸展させることが分かった。これらのことから、JAK/STAT シグナル伝達経路の下流でボーダー細胞の運動性と浸潤性は、独立に制御され、段階的に獲得されることが予想された。本研究では、移動能獲得状態の異なる野生型、*slbo* 突然変異体、JAK/STAT 阻害個体のボーダー細胞の遺伝子発現プロファイルを RNA-seq により比較し、運動性および浸潤性の獲得に寄与する可能性のある遺伝子の探索を試みた。その結果、運動性に関わる因子として、非受容体型チロシンキナーゼをコードする *FER*、浸潤性に関わる因子として、シグナル伝達に関わるヘパラン硫酸プロテオグリカンにコードする *dally* 等を同定することに成功した。本研究により、新たな上皮細胞の移動能獲得機構が明らかになることが期待される。

ショウジョウバエ Myo1D による細胞左右軸獲得機構の高解像度解析

* 倉永 英里奈 (東北大学大学院生命科学研究科), 関根 清薫 (東北大学大学院生命科学研究科), 上地 浩之 (東北大学大学院生命科学研究科), 中里 楓 (東北大学大学院生命科学研究科), 佐藤 繭子 (理化学研究所環境資源科学研究センター質量分析・顕微鏡解析ユニット), 岡山 聡子 (理化学研究所生命機能科学研究センター超微形態研究チーム), 尾上 健太 (理化学研究所生命機能科学研究センター超微形態研究チーム), 米村 重信 (理化学研究所生命機能科学研究センター超微形態研究チーム), 豊岡 公德 (理化学研究所環境資源科学研究センター質量分析・顕微鏡解析ユニット)

キーワード: 細胞の左右軸, 集団細胞移動, ショウジョウバエ, 細胞骨格

組織の左右非対称性は、消化管や心臓などさまざまな器官で種を超えて観察される現象であり、左右軸獲得機構の解明は組織形成を理解する上で重要である。ショウジョウバエでは、I 型ミオシンである Myo1D が左右軸決定因子として同定されており、胚後腸の方向性あるねじれ形成や、蛹期における雄性外生殖器の前後軸に対して右回りの回転運動などに寄与することが知られている。また、Myo1D はアクチン繊維に回転性の滑り運動を引き起こすことや、ゼブラフィッシュ Kupffer's vesicle におけるシリアの回転方向を制御することが知られており、分子・細胞レベルから生じた左右非対称性が、組織レベルの左右軸形成の分子メカニズムにつながることを示唆されているが、その詳細な分子メカニズムは不明である。これまでに我々は、雄性外生殖器の回転を実行する上皮集団細胞 (A8 細胞) が、細胞-細胞間接着面における左右非対称なアクチン (アクチン-ミオシン II 複合体) 分布を Myo1D 依存的に形成していることを見出していた。今回、回転運動時の A8 細胞内のアクチン動態を高解像度で解析したところ、内径 1 μm 未満の不安定なリング状のアクチン構造が頂端面下に頻出することを発見した。この「アクチンリング」は Myo1D と共局在したことで、および Myo1D の欠損によりその出現頻度が有意に減少したことから、Myo1D によって形成されると考えられる。アクチンリングは各細胞頂端面の進行方向に対して後方に有意に生じ、また、細胞膜マーカーがアクチンリングの内側に観察されたことから、アクチンリングは小胞または頂端膜の貫入の周囲に生じることがわかった。Myo1D は膜結合ドメインを持つことから、Myo1D がアクチンを脂質膜と架橋して異方的に活発化させ、細胞の左右軸形成に関与する可能性が示唆された。

上皮組織の集団細胞移動における細胞周期依存的な制御メカニズムの解明

* 二宮 小牧 (東北大学・院・生命・組織形成 | 東北大学・理・生物・組織形成), 白澤 諒太 (東北大学・院・生命・組織形成), 岩月 貴之 (東北大学・院・生命・組織形成), 大島 綾笑 (東北大学・理・生物・組織形成), 倉永 英里奈 (東北大学・院・生命・組織形成 | 東北大学・理・生物・組織形成)

キーワード: 上皮, 細胞移動, 細胞周期, ショウジョウバエ, 組織形態形成

細胞の集団移動は、発生過程における組織形態の形成過程だけでなく、がんの浸潤や転移等の病態発症プロセスにも関わる重要なイベントである。本研究のモデルとして注目した「ショウジョウバエの雄性外生殖器の形態形成」では、蛹期に生殖器が360度回転する。この回転は、生殖器を囲むリング状の上皮組織であるA8細胞集団が時計回りに移動することで駆動される。しかし、A8細胞集団が決まったタイミングで同期して、同じ方向へ移動し始めるメカニズムは明らかでなかった。そこで本研究では、多細胞集団が協調してダイナミックな動きを実現する制御メカニズムの更なる理解を目指している。

まず、細胞増殖の制御による細胞移動への影響に注目し、細胞周期可視化レポーターであるFUCCIをA8細胞特異的に発現させてライブイメージング解析した。その結果、A8細胞は集団移動の開始直前に一斉にG1期に移行し、移動中もG1期に留まることを見出した。次に、代表的な細胞周期進行のチェックポイント分子を選定し、A8細胞特異的に過剰発現もしくはRNAiによる発現抑制を行うことで、G1期もしくはG2期に停滞させて集団移動への影響を解析した。その結果、G1期に停滞させた場合は野生型と同様に集団移動が観察されたが、G2期に停滞させた場合は移動が起らなかったことから、A8細胞は、同じギャップ期であってもG2期ではなくG1期依存的に集団移動していることが明らかになった。加えて、A8細胞が集団移動するタイミングでqPCRを行ったところ、EMT関連因子の発現上昇が確認されたことから、G1期移行とEMT関連因子の関連について解析を進めている。また、このG1期依存的な細胞移動は、ショウジョウバエ卵室のボーダー細胞の集団移動でも確認できたことから、他の組織でも保存されたメカニズムであることが示唆される。本発表では、細胞移動における細胞周期との関連について議論したい。

上皮細胞集団が局所的な管腔構造を決定する制御メカニズムの解析

* 青山 美波 (東北大学・院・生命・組織形成), 二宮 小牧 (東北大学・院・生命・組織形成), 倉永 英里奈 (東北大学・院・生命・組織形成)

キーワード: 上皮形態形成, 管腔形成, アクチン骨格, アクトミオシン

多くの生体組織には、腎臓や乳腺などの管腔構造を形成する上皮組織が存在し、これらの組織形成を理解するためには、管腔の発達プロセスを紐解く必要がある。MDCKII細胞は、2D培養系は集団細胞移動や極性形成などのモデルとして広く使用されているが、コラーゲン中で3D培養すると、自発的に単層で中空の球構造(シスト)を形成し、立体的な変形パターンも誘導可能な3D上皮形態形成モデルとして確立されている。例えば、このシストに肝細胞増殖因子(HGF)を含んだ培地を添加すると、次の段階を経てシストから管が1本だけ形成される。まずHGFに応答して浸潤性を得た細胞が突起構造を伸長(extension)、この細胞が分裂・移動して(chain)、新たに内腔が形成されて管ができる。しかし、球構造のシストがどのようにHGFに応答し、たった1本だけの管腔を伸長・形成するのか、そのメカニズムは明らかでない。そこで我々は、シストにおける管腔伸長の位置の制御メカニズム解明を目指して研究を行っている。

まず管腔が形成される過程を観察するために、3D培養したMDCKII細胞がシストを形成した後に、HGFによって管腔形成を誘導し、その後のプロセスを段階に沿って解析した。その結果、HGF処理24時間後に、初期段階で形成される細胞の突起構造であるextensionは複数(2-4本)見られ、管腔形成プロセスの進行に伴ってその数は減少し、chain以降の管腔構造は1本だけ観察されることが明らかになった。このことから、伸長する管腔の位置決定は、extensionの伸長後に選択的に起こっている可能性が示唆された。本発表では、シストから管腔形成される過程のイメージング画像と、このextensionの選択に関わる細胞シグナルの解析についてのデータを提示しながら、上皮組織から管腔構造が形成される仕組みについて議論したい。

15:30-17:00 (2023-06-28 15:30 - 17:00 | ポスター会場)

P - D1 - P001 - 056

樹状細胞移動のための力発生機構の解析

* 馬場 健太郎 (奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域), 武内 良介 (奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域), 長嶋 慶和 (奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域), 酒井 瑞貴 (奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域), 東口 泰奈 (奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域), 神戸 弘子 (奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域), 植田 祥啓 (関西医科大学 附属生命医学研究所 分子遺伝学部門), 上岡 裕治 (関西医科大学 附属生命医学研究所 分子遺伝学部門), 木梨 達雄 (関西医科大学 附属生命医学研究所 分子遺伝学部門), 稲垣 直之 (奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域)

キーワード：細胞移動, 走化性, 牽引力, 樹状細胞, 免疫

細胞外環境の拡散性の化学物質により調節される細胞移動は走化性と呼ばれ、免疫細胞の移動に重要である。免疫細胞の一種である樹状細胞はリンパ節で分泌される CCL19 の濃度の高い側へと高速で移動する。細胞移動のモデルでは細胞先端においてクラッチ分子がアクチン線維の逆行性の動きを、細胞接着分子に伝えることで細胞移動の力を生み出すと考えられている。しかしながら、樹状細胞のクラッチ分子が不明であり、樹状細胞の移動のための力の発生機構はよく解っていない。我々のグループは、これまでに樹状細胞において shootin1b が発現することを見出した。本研究では、shootin1b がクラッチ分子として機能するかを検証し樹状細胞移動のための力発生機構の解明を目指した。

まず、樹状細胞を CCL19 で刺激し shootin1b のリン酸化を解析した。その結果、リン酸化酵素 Pak1 により shootin1b がリン酸化されることが解った。次に、免疫共沈降法により、リン酸化が shootin1b と細胞接着分子 L1 の相互作用および shootin1b とアクチン結合分子 Cortactin の相互作用を促進することが解った。ノックアウト細胞では shootin1b を介したアクチン線維と L1 の連結が抑えられるため、細胞移動の力が減少する可能性がある。そこで牽引力顕微鏡法を行ったところ、野生型細胞と比べてノックアウト細胞の牽引力が減少することが解った。さらに、一分子計測により細胞先端で細胞接着分子 L1 が細胞外基質ラミニン上をスリッすることが解った。樹状細胞の牽引力は弱く滑りやすいことが示唆された。また、リンパ節スライス内での樹状細胞の移動速度が野生型細胞と比べてノックアウト細胞では減少することが解った。以上の結果より、樹状細胞において shootin1b はクラッチ分子として機能し細胞移動の力の発生に関与することが示唆された。

15:30-17:00 (2023-06-28 15:30 - 17:00 | ポスター会場)

P - D1 - P001 - 057

概日リズムと一次繊毛の関係性

* 中里 亮太 (広島大学医系科学研究科解剖学及び発生生物学研究室), 松田 悠生 (広島大学医系科学研究科解剖学及び発生生物学研究室), 木曾 遼太郎 (広島大学医系科学研究科解剖学及び発生生物学研究室), 池上 浩司 (広島大学医系科学研究科解剖学及び発生生物学研究室)

キーワード：時計遺伝子, 一次繊毛, 概日リズム

【背景】睡眠と覚醒、血圧、体温など、多くの生命現象は約 24 時間周期の「概日リズム」を示す。概日リズムは「時計遺伝子」と呼ばれる転写因子群のネガティブフィードバックループにより生み出される。概日リズム生成の中心は脳の視交叉上核とされているが、全身の様々な細胞においても時計遺伝子は発現しており、各細胞が自律的に概日リズムを刻んでいる。全身の細胞は一次繊毛と呼ばれる一本の毛の様な構造物を細胞外へ突出させている。一次繊毛は細胞外のシグナルを感知するアンテナとして機能し、一次繊毛の構造・機能異常は「繊毛病」と呼ばれる様々な疾患を引き起こすとされている。本研究では概日リズムと一次繊毛の関係性について解析を行った。【方法】マウス線維芽細胞 NIH/3T3 を 100 nM のデキサメタゾン (DEX) に 2 時間曝露し時計遺伝子の発現リズムを同調させ、6 時間ごとに細胞を 4% パラフォルムアルデヒド固定した。その後、免疫染色により一次繊毛を可視化し、解析を行った。【結果】DEX により同調された NIH/3T3 細胞では一次繊毛の長さに 24 時間周期のリズム性変動が観察された。また、一次繊毛長のリズム性変動は時計遺伝子の抑制因子 REV-ERB α の合成リガンド SR9011 の処理により消失した。【考察】以上の結果から、一次繊毛の長さは時計遺伝子により制御され、概日リズムを示すことが示唆される。

染色体倍加細胞における余剰中心体動態

* 猪子 雅哉 (北海道大学 大学院生命科学院), 塚田 祐基 (名古屋大学 大学院理学研究科), 上原 亮太 (北海道大学 先端生命科学研究院)

キーワード: 細胞分裂, 倍数性, 中心体, 染色体倍加

細胞周期制御異常により細胞の全染色体が倍増する染色体倍加は、固形がんの約 3 割に共通する細胞異常で (Bielski et al. 2018)、がん病態への重要な寄与が示唆されている (Fujiwara et al. 2005)。染色体倍加の際には、中心体の数も正常数の 2 から 4 へと倍増する。この余剰な中心体は紡錘体による分裂期染色体捕捉を不正確にし、組織細胞の不均一化に寄与すると考えられる。このため余剰中心体の動態は細胞運命を決定する要因の一つと考えられる。しかし、染色体倍加から次の細胞分裂に至るまでの余剰中心体の複雑な動態についての定量的な知見は乏しく、個々の中心体がどのように振る舞うのか、またその振る舞いがどのような原理で決まるのかは明らかでない。本研究では、染色体倍加後の余剰中心体の動態を定量的・系統的に調べ、その動態を生み出すメカニズムを解明することを目指している。染色体倍加細胞の中心体動態および分裂制御を観察するため、ヒト大腸がん由来 HCT116 細胞に対し、薬剤処理による細胞分裂阻害により二種類の代表的な染色体倍加細胞 (二核および一核染色体倍加細胞) を作成した。共焦点蛍光顕微鏡を用いて間期から分裂期にかけての中心体の細胞内配置をライブ撮像し、中心体位置座標を取得して中心体間距離、移動速度、中心体平面の角度などの指標で中心体位置の定量化を実施した。観察の結果、二核染色体倍加細胞と一核染色体倍加細胞との間で分裂期初期の中心体動態が大きく異なり、染色体倍加経緯の違いによる余剰中心体動態の顕著な多型が明らかになった。また、正常二倍体細胞で中心体の分離・会合制御を司るモータータンパク質に対して染色体倍加細胞で摂動を与えると、余剰中心体の動態に染色体倍加細胞特有の影響が生じることも分かってきた。本発表では、このような中心体動態が染色体倍加細胞の運命に及ぼす影響についても議論したい。

線虫 *C.elegans* のキネシン KLP-6 と UNC-104 の比較によるキネシン -3 の活性化メカニズムの解明

* 北 智輝 (東北大学大学院生命科学研究科), 丹羽 伸介 (東北大学大学院生命科学研究科 | 東北大学学際科学フロンティア研究所)

キーワード: キネシン, 分子モーター, タンパク質精製, 1 分子実験

キネシン -3 ファミリーメンバータンパク質は、細胞内の微小管上を移動することで、シナプス小胞前駆体などの生命活動に欠かせない物質を輸送する。多くのキネシンは二量体化することで微小管上を一方向に移動することができる。これまで、キネシン -3 は、自己阻害によって溶液中では単量体の状態で存在し、貨物との結合で活性二量体となると考えられてきた。この仮説に対して、我々は精製タンパク質を用いて *C.elegans* のキネシンである KLP-6 と UNC-104 の生化学的特性を調べることで、以前とは異なるキネシン -3 の活性化メカニズムを提唱する。KLP-6 は人工的に二量体化することで、以前から報告されている UNC-104 と同様に、進行的なモーターとなることがわかった。一方で、ネイティブな状態では、溶液中で UNC -104 は単量体と二量体の間の平衡状態で存在し、KLP-6 は単量体であることが判明した。以前の仮説とは異なり、自己阻害を解除することで UNC-104 は貨物との結合を伴わずに、活性二量体に変化することを明らかにした。その一方で、KLP-6 は自己阻害を解除しても非進行的な単量体モノマーのままであることがわかった。これら二つのモーターの配列を比較することで、我々はキネシン -3 の二量体化と安定した運動には CC 2 と呼ばれるコイルドコイルドメインが必須であると結論づけた。これらの結果は、キネシン -3 ファミリーメンバーの共通の活性化メカニズムがある一方で、多様性もあることを示唆する。

15:30-17:00 (2023-06-28 15:30 - 17:00 | ポスター会場)

P - D1 - P001 - 060

上皮極性形成におけるアクチンリング構造の機能解析

* 柴田桂太郎 (徳島大学大学院医歯薬学研究部細胞生物学分野), 米村重信 (徳島大学大学院医歯薬学研究部細胞生物学分野)

キーワード: 上皮極性, アクチン, 1分子観察

細胞の極性形成は、発生や形態形成などの生物学的プロセスにおいて最も基本的かつ重要な特性の一つである。シート状に並んだ単層上皮細胞では、頂底極性を形成している。頂部と基底側膜の境界には、タイトジャンクション (TJ) とアドヘレンスジャンクション (AJ) が形成されており、これらを裏打ちして細胞結合やシート構造を安定化させるため、細胞を一周取り囲むようなアクチンフィラメントのリング構造が形成されている。アクチンのリング構造は TJ や AJ を形成できない細胞でも形成されることが分かっている。その形成過程でアクチンフィラメントが細胞辺縁部から上皮極性の境界部へと流れて集積し、リングを形成する様子が観察できる。上皮極性形成メカニズムの最初期において、極性形成を始める最初の因子がどの様に局在化するのは未だに分かっていないが、AJ 形成よりも早い段階で形成されるアクチンリングとその流れが重要な役割を果たしている可能性がある。そこで我々は、上皮極性形成に関与すると思われる因子が、アクチンの流れに乗ってリング構造や頂部に局在化するかどうか調べる為、独自開発した細胞内 1 分子観察技術を用いて観察を行った。その結果、上皮極性形成に重要とされるホスファチジルイノシトール 4,5 ビスリン酸と相互作用する複数の分子がアクチンフローに運ばれている可能性があることが分かった。今後これらの分子が上皮極性形成にどのように機能しているのか詳細に解析し、最初期の上皮極性形成メカニズムを明らかにしていきたい。

15:30-17:00 (2023-06-28 15:30 - 17:00 | ポスター会場)

P - D1 - P001 - 061

機械的力を感知した細胞の運動変化と細胞集団に与える影響

* 浅野 千帆莉 (徳島大学医学部細胞生物学分野 | 徳島大学医学部 Student Lab), 柴田 桂太郎 (徳島大学医学部細胞生物学分野), 石田 紘基 (徳島大学医学部細胞生物学分野 | 徳島大学医学部 Student Lab), 米村 重信 (徳島大学医学部細胞生物学分野)

キーワード: 細胞運動, 上皮極性, メカノバイオロジー, 創傷閉鎖

細胞の集団運動は発生、形態形成、がんの浸潤などの生物学的プロセスに重要な役割を果たしている。集団運動の制御には化学的なシグナルの関与が大きいことはよく知られているが、周囲の環境や個々の細胞から生じる機械的な力もシグナルとして利用されていることが近年報告されている (Sniadecki et al., 2007; Ladoux and Mège, 2017)。しかしながら、力学的な視点からの細胞集団の運動メカニズムは分かっていないことが多い。その理由の一つに、生体内での力学測定の困難さが挙げられる。そこで我々は、ガラス基板上で単層上皮シートの運動を再現し、任意に外力を加えて細胞集団がどのような反応を示すのか調べることにした。まず、基板上での細胞集団運動の再現には、レーザーを利用した細胞殺傷による創傷閉鎖実験を行った。創傷閉鎖は細胞集団運動の研究に適したモデルのひとつとして用いられる。さらに、外力を加える手法として磁気ピンセットを用いた。細胞を殺傷する直前に磁気ピンセットで力を加えると、その後の閉鎖速度が変化することが分かった。また、細胞が運動を開始する際に機械的な力を感知して、運動方向や速度を決定している可能性を示す結果を得る事ができた。本研究発表では、具体的な力の大きさや方向とそれに対する細胞集団の反応について議論したい。今後はメカノセンサーやメカノトランスデューサーの動態も合わせて観察し、力と細胞運動の関係を分子レベルで解明していく。

15:30-17:00 (2023-06-28 15:30 - 17:00 | ポスター会場)

P - D1 - P001 - 062

出芽酵母における Rho ファミリータンパク質によるアクチンケーブルの形成機構の解明

* 工藤伽那子 (東京理科大学大学院)

キーワード: 東京理科大, 細胞内小胞輸送, アクチンケーブル, 細胞骨格

アクチン細胞骨格は細胞内小胞輸送において重要な役割を担っている。出芽酵母において、アクチンケーブルはエンドサイトーシスにおけるクラスリン被覆小胞の細胞内への取り込み、および分泌経路の輸送において重要な働きをしている。アクチンケーブルの形成には複数の Rho ファミリータンパク質とその下流因子である Formin が関与していると考えられているが、その重複した機能のため、各 Rho タンパク質の特有の役割については不明な点が多い。私達の研究室では、これまでにこれら Rho ファミリータンパク質の温度感受性変異体を作成し、*rho1*、*rho3* および *cdc42* 変異体においてアクチン細胞骨格に重篤な異常が生じることを明らかにした。本研究において、私達は酵母 Formin である Bni1p の活性を直接制御している Rho タンパク質の同定を試みた。ラパマイシン誘導性二量化法を用いて、各 Rho タンパク質の C 末端に FKBP を融合し、ペルオキシソームに強制的に局在化させた際に、Bni1p がペルオキシソームにリクルートされるか調べた。この結果、Rho1p を局在化させた場合のみ Bni1p がリクルートされることが分かった。これに対し、Cdc42p 内部に FKBP を挿入し、Cdc42p をペルオキシソームへ局在化させた際は、Bni1p のリクルートは見られなかった。しかしながら、Cdc42p をペルオキシソームへ局在化させた細胞ではアクチンケーブルの極性異常が見られ、このことから Cdc42p はアクチンケーブルの正常な局在化に重要であることが示唆された。これらの結果より、Rho1p の各 Bni1p への結合と Cdc42p の局在がアクチンケーブル形成に重要であること、また、各 Rho タンパク質単独ではアクチンケーブルを形成することはできないことが明らかになった。

スキルス胃がん細胞と間質線維芽細胞の直接的な相互作用を担う分子機構

* 山口 英樹 (公益財団法人佐々木研究所 附属佐々木研究所 腫瘍細胞研究部), 永村 ゆう子 (公益財団法人佐々木研究所 附属佐々木研究所 腫瘍細胞研究部), 宮崎 允 (公益財団法人佐々木研究所 附属佐々木研究所 腫瘍細胞研究部)

キーワード: がん, 転移, 線維芽細胞, インテグリン, 抗体

スキルス胃がんはびまん性浸潤、間質線維化、腹腔内に種を播くように転移する腹膜播種を特徴とする予後不良の低分化型胃がんである。スキルス胃がん組織および腹膜播種巣では間質線維芽細胞が異常に増殖し、間質の線維化と腫瘍の進展を促進する。我々は以前、線維芽細胞との接着がスキルス胃がん細胞の浸潤と腹膜播種に必要であることを報告した。本研究では、この異種細胞間接着を担う分子を同定し治療標的としての有用性を評価することを目的とした。まず、スキルス胃がん細胞とスキルス胃がん組織由来間質線維芽細胞の接着を評価するハイスループットアッセイ系を確立した。この系を用いて、スキルス胃がん細胞を抗原とする数千クローンのモノクローナル抗体のスクリーニングを行った。その結果、両細胞間の接着を阻害する5クローンの抗体の取得に成功した。免疫沈降と質量分析により抗原を同定したところ、得られた全ての阻害抗体はインテグリン $\alpha 5$ を認識していた。実際にがん細胞が発現するインテグリン $\alpha 5$ は、線維芽細胞表面に蓄積したフィブロネクチン繊維に結合して両細胞間の接着を担うことが分かった。スキルス胃がん細胞は分化型胃がん細胞に比べ線維芽細胞への接着能が高く、インテグリン $\alpha 5$ の発現量も多かった。一方、分化型胃がん細胞にインテグリン $\alpha 5$ を過剰発現させると、線維芽細胞への接着が強まった。さらに、スキルス胃がん細胞のインテグリン $\alpha 5$ のノックアウトあるいは阻害抗体の投与により、線維芽細胞に先導される3次元培養での浸潤とマウス移植モデルにおける腹膜播種が抑制された。インテグリン $\alpha 5$ の発現はスキルス胃がんで高く、患者の予後不良と相関することが分かった。従って、インテグリン $\alpha 5$ はスキルス胃がん細胞と間質線維芽細胞の直接的相互作用を担う治療標的分子であること、また本研究で得られた阻害抗体はスキルス胃がんに対する抗体医薬となる可能性が示唆された。

高浸透圧ストレスによるタイトジャンクション拡大機構解析

* 長 佑磨 (九州大学システム生命科学府), 谷口 明香梨 (九州大学理学部生物学科), 池ノ内 順一 (九州大学理学研究院)

キーワード: タイトジャンクション, クローディン, EpCAM, 浸透圧ストレス

上皮細胞シートは、外界からの異物の侵入や体内からの物質の漏出を防ぐバリア機能を有している。このバリアの分子の実体は、タイトジャンクション(TJ)と呼ばれる細胞間接着構造である。TJは、膜タンパク質であるクローディン同士が形質膜上でシスに、さらに隣り合う細胞間でトランスに結合することで、全体としてTJストランドと呼ばれる網目状の構造を形成し、隣接する細胞の形質膜を密着させることでバリアを発揮している。

上皮細胞は体表や器官の表面に位置しており、常に細胞外環境の大きな変化に曝されている。腸管の上皮細胞の管腔面には様々な浸透圧の溶液が流れている。このような浸透圧ストレスに応答して、TJストランドの形成量は動的に変化する。短時間でのTJストランドの形成量の制御には、クローディンの転写・翻訳制御に依らないメカニズムが存在すると考えられるが、その詳細は明らかになっていない。そこで本研究では、高浸透圧ストレス負荷によって20分程度でTJストランドが拡大し、上皮バリア機能が亢進するという現象 (Madara *JL J Cell Biol* 1983; Shiomu et al. *Sci Rep* 2015) に着目し、TJストランドの拡大に必要なクローディンが供給される分子機構の解明に取り組んだ。

近年の研究によって、クローディンと相互作用する膜貫通タンパク質としてEpCAMが同定された。EpCAMはTJより基底側のラテラル膜に局在する1回膜貫通タンパク質である。EpCAMをノックアウトした培養上皮細胞の解析から、高浸透圧ストレス負荷によるTJストランドの拡大には、EpCAMが必要であることが明らかになった。さらに、TJストランドの動的な制御におけるEpCAMの役割について、現在、詳細な解析を進めている。

ビネキシン α - ホスファチジン酸相互作用はビネキシン α の接着斑への安定的な局在に寄与する

* 立花 大 (京都大学), 鎌田 一希 (京都大学), 伊藤 有亮 (京都大学), 木岡 紀幸 (京都大学)

キーワード: 接着斑, タンパク質精製, ビネキシン α , ホスファチジン酸, FRAP

接着斑は動物細胞と細胞外マトリックス (ECM) の接着部位に形成され、硬さなどの ECM の性質を感知して細胞内へと情報を伝達する。接着斑を構成するビネキシン α は ECM の硬さ感知を調節し、また生化学的解析から細胞膜画分に検出される。しかし、既知のビネキシン α 結合タンパク質の発現抑制は細胞膜画分への局在に影響せず、細胞膜局在化の仕組みは不明である。そのため、ビネキシン α は脂質と直接結合して細胞膜に局在し、それがビネキシン α の機能を調節するという仮説を立てた。本発表では、生化学的解析でビネキシン α と結合する脂質としてホスファチジン酸 (PA) を同定した。また、培養細胞実験により PA が接着斑へのビネキシン α の安定的な局在に寄与すると明らかにしたことを報告する。

野生型同様の細胞内局在を示す N 末端 156 残基欠損変異体ビネキシン α Δ 156 を哺乳類細胞に発現させ、ゲル濾過による高純度の精製を行った。精製タンパク質を種々の脂質で構成したりポソームと混合して共沈降実験を行い、脂質結合能を評価したところ、ビネキシン α Δ 156 は PA と特異的に相互作用した。さらに、PA を産生するホスホリパーゼ D2 (PLD2) またはその不活性型変異体を発現するマウス胎児繊維芽細胞を樹立し、光褪色後蛍光回復 (FRAP) 法でビネキシン α 変異体の動態を評価した。その結果、野生型 PLD2 発現細胞でビネキシン α Δ 156 の接着斑における不動画分が低下し、PLD2 活性依存的なターンオーバーの低下が示唆された。ビネキシン α - PA 相互作用を調節する領域を明らかにするため、SoHo ドメインを欠損したビネキシン α Δ 234 を FRAP 法で解析したところ、PLD2 活性依存的なターンオーバーの変化は観察されなかった。以上より、PA はビネキシン α と相互作用し、SoHo ドメイン依存的にビネキシン α の接着斑への安定的な局在に寄与することが明らかになった。

Pacsin 2-dependent N-cadherin internalization regulates the migration behaviour of malignant cancer cells

* Haymar Wint (1. Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama University), Jianzhen Li (2. Laboratory for Neural Cell Dynamics, RIKEN Center for Brain Science, Wako, Saitama), Tadashi Abe (1. Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama University), Hiroshi Yamada (1. Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama University), Takumi Higaki (4. International Research Organization for Advanced Science and Technology, Kumamoto University), Yasutomo Nasu (5. Department of Urology, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences), Masami Watanabe (5. Department of Urology, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences), Kohji Takei (1. Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama University), Tetsuya Takeda (1. Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama University)

キーワード: N-cadherin, Pacsin 2, endocytosis, collective cell migration

Collective cell migration is the coordinated movement of multiple cells connected with cadherin-based adherens junctions essential for physiological and pathological processes. Cadherins undergo dynamic intracellular trafficking and their surface level is determined by a balance between endocytosis, recycling and degradation. However, regulatory mechanism of cadherin turnover in the collective cell migration remains elusive. In this study, we show that a BAR domain protein pacsin 2 plays an essential role in collective cell migration by regulating the N-cadherin endocytosis in human cancer cells. Pacsin 2-depleted cells formed cell-cell contacts enriched with N-cadherin and migrated in a directed manner. Furthermore, pacsin 2-depleted cells showed attenuated internalization of N-cadherin from the cell surface. Interestingly, the GST-pulldown assay demonstrated that the pacsin 2 SH3 domain binds to the cytoplasmic region of N-cadherin, and expression of a N-cadherin mutant defective in binding to pacsin 2 phenocopied pacsin 2 RNAi cells both in cell contact formation and N-cadherin endocytosis. These data support new insights into a novel endocytic route of N-cadherin in collective cell migration providing pacsin 2 as a possible therapeutic target for cancer metastasis.

15:30-17:00 (2023-06-28 15:30 - 17:00 | ポスター会場)

P - D1 - P001 - 067

Shootin1b を介した動的なアクチンフィラメントと E-カドヘリンの連結による細胞間接着形成機構の解析

* 酒巻 裕介 (奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・バイオサイエンス領域・神経システム生物学), 嶺岸 卓徳 (奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・バイオサイエンス領域・神経システム生物学), 寺澤 滉太 (奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・バイオサイエンス領域・神経システム生物学), Saranpal Singh (奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・バイオサイエンス領域・神経システム生物学), 栗原 幸代 (奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・バイオサイエンス領域・神経システム生物学), 鳥山 道則 (奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・バイオサイエンス領域・神経システム生物学 | 関西学院大学・生命環境学部・生命医科学科・脳神経イメージング), 西村 珠子 (奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・バイオサイエンス領域・分子医学細胞生物学), 末次 志郎 (奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・バイオサイエンス領域・分子医学細胞生物学), 稲垣 直之 (奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・バイオサイエンス領域・神経システム生物学)

キーワード：上皮組織, 細胞-細胞間接着, 動的なアクチンフィラメント, 形態形成, 超解像顕微鏡

上皮細胞の細胞間接着領域では細胞骨格のアクチンフィラメントがカテニンを介して E-カドヘリンと連結され細胞間接着が形成される。この領域には重合と脱重合を繰り返す動的なアクチンフィラメントも存在するが、これら動的なアクチンフィラメントがどのように E-カドヘリンに連結され細胞間接着形成に関わるか不明な点が多い。

我々は上皮組織に発現するタンパク質 shootin1b を同定し、細胞間接着領域で E-カドヘリンと共局在することを報告した。また遊走中の神経細胞では、shootin1b が神経突起の先端で動的なアクチンフィラメントと L1-CAM を連結することで細胞遊走の駆動力発生に関わることを報告した。これらの結果から、shootin1b が上皮細胞内の動的なアクチンフィラメントと E-カドヘリンを連結する可能性が考えられる。

本研究では shootin1b による細胞間接着形成機構の解析を行った。in vitro 結合アッセイを行うと、shootin1b が E-カドヘリンの細胞内ドメインと直接結合した。マウス乳腺上皮組織を超解像顕微鏡で詳細に観察すると、接着結合と側方膜で shootin1b が E-カドヘリンおよびアクチンフィラメントと共局在した。マウス乳腺上皮由来の細胞株 EpH4 細胞の shootin1b をノックアウトすると、細胞間接着形成が遅れバリア機能が低下した。これらの結果は、上皮細胞では shootin1b による動的なアクチンフィラメントと E-カドヘリンの連結が接着結合から側方膜にかけた細胞間接着形成に関わることを示唆している。現在、shootin1b によるアクチンフィラメントと E-カドヘリンの連結の動的過程の解析と shootin1b ノックアウトマウスの上皮組織を用いた表現型の探索を行っている。shootin1b による細胞間接着形成が正常な上皮組織の形態形成にどのように関わるかも論じる。

15:30-17:00 (2023-06-28 15:30 - 17:00 | ポスター会場)

P - D1 - P001 - 068

Tight junction membrane proteins in mechanical resistance of apical junctions

* Thanh Phuong NGUYEN (Department of Physiological Sciences, SOKENDAI, JAPAN | Division of Cell Structure, National Institute for Physiological Sciences, Okazaki, JAPAN)

キーワード：Tight junctions, claudins/JAM-A/CAR, ZO-1, Actin, mechanical resistance

Epithelia are constantly exposed to mechanical stress and must resist that stress to preserve tissue integrity. At the cellular level, epithelial cells fight against stress via their intercellular junctional complexes, including tight junctions (TJs), adherens junctions, and desmosomes. Among them, adherens junctions and desmosome are well investigated for playing critical roles in mechanical stress resistance, while there is no direct evidence of how TJs contribute to this concept. Here we reported that spontaneous apical junction breakages were observed in epithelial cells depleted for two TJs membrane molecules claudins and JAM-A (claudins/JAM-A KO cells) which completely lack TJs. Live-cell imaging revealed that junction breakages occurred when cells underwent stretching. Upon stretching, junction breakages were coupled with the disorganization of circumferential actomyosin, and actin polymerization was critical for the maintenance of junction integrity in claudins/JAM-A KO cells. Interestingly, we observed compromised ZO-1 mechanosensitive conformation change in claudins/JAM-A KO cells, suggesting the roles of TJs in connecting apical junctions to the actin cytoskeleton to ensure intact apical junctions upon stretching. In addition, the increase of another TJs membrane molecule CAR was observed in Claudins/JAM-A KO cells, and further removal of CAR enhanced the junction breakage phenotype. In summary, these results demonstrate that the transmembrane proteins of TJs cooperatively regulate the mechanical resistance of apical junctions.

肝星細胞活性化抑制作用を有する肝細胞と肝星細胞間の接着因子の探索

* 井上 喜来々 (大阪公立大学大学院理学研究科 発生生物学研究室 | 大阪公立大学大学院医学研究科 肝胆膵病態内科学研究室), 松原 三佐子 (大阪公立大学大学院獣医研究科 細胞分子生物学教室 | 大阪公立大学大学院医学研究科 合成生物学寄附講座), 松原 勤 (大阪公立大学大学院医学研究科 機能細胞形態学講座), 湯浅 秀人 (大阪公立大学大学院医学研究科 機能細胞形態学講座), 宇留島 隼人 (大阪公立大学大学院医学研究科 機能細胞形態学講座), 大黒 敦子 (大阪公立大学大学院医学研究科 機能細胞形態学講座), 池田 一雄 (大阪公立大学大学院医学研究科 機能細胞形態学講座), 吉里勝利 (大阪公立大学大学院医学研究科 合成生物学寄附講座), 鈴木 孝幸 (大阪公立大学大学院理学研究科 発生生物学研究室), 河田 則文 (大阪公立大学大学院医学研究科 肝胆膵病態内科学研究室)

キーワード：細胞間相互作用, 細胞接着, 肝星細胞, 肝細胞, 肝臓

【目的】

肝臓は、他の臓器に比べて細胞外マトリックスが少なく、肝重量に対する占有率は約 0.6% である。そのため、細胞間の接着が細胞極性の高い肝臓組織の構築に重要である。実際に、1 個の肝星細胞 (HSC) は、spine と呼ばれる突起を介して約 30 ~ 40 個の肝細胞 (Heps) と直接結合している。最近、私たちは HSC を Heps と共培養することにより HSC が静止型のフェノタイプを示すことを観察した。また、ジキトニン処理した Heps との共培養でも同様に HSC は静止型を維持していた。このことから、HSC の形態学的静止期の維持には肝細胞への接着が必須であり、肝細胞膜には HSC の脱活性化を誘導する因子が存在するのではないかと考えた。本研究では、HSC 活性化抑制作用における肝細胞膜の評価及び、HSC 活性化抑制作用を有する Heps と HSC の接着因子の探索を行った。

【方法】

野生型のマウスから Heps を単離し、低浸透圧法、密度勾配遠心法を用いて細胞膜を精製した。この肝細胞膜をコーティングした培養プレートを作製し、その上に野生型のマウスから単離した mHSC やヒト胎児肝星細胞 (HHStC) を播種することで肝細胞膜と肝星細胞の接着を模倣できる培養システムを構築した。培養後、mHSC と HHStC の画像解析および遺伝子発現解析を行い、HSC の活性化を評価した。さらに、ビオチンアッセイ及び MALDI-TOFMS を用いて、Heps と HSC 間の接着因子の探索を行った。

【結果】

肝細胞膜コーティングプレート上に培養した mHSC は通常プレート培養に比べて、静止型のフェノタイプである樹状突起に富んだ形態を示し、活性化 HSC マーカーである Acta2、Col1a1 の発現を抑制した。また HHStC でも同様に ACTA2、COL1A1 の発現は抑制され、静止期マーカーである MMP1 の発現は上昇した。これらの結果から、Heps と HSC の接着が HSC の活性化を抑制すると結論づけた。

また、ビオチンアッセイ及び MALDI-TOFMS を用いた網羅的解析により、HSC 活性化抑制に関与する接着タンパク質を同定した。

【結語】

この研究結果は、Heps と HSC の相互作用のメカニズムおよび肝細胞膜の有用性について、これまでに見えていない知見を提供するものであり、肝疾患の新たな治療戦略につながる。

三塩基繰り返し配列伸長の有無で分類したフックス角膜内皮ジストロフィ疾患モデル細胞の樹立

* 安永 真理 (同志社大学大学院 生命医科学研究科), 奥村 直毅 (同志社大学大学院 生命医科学研究科), 中川 達也 (同志社大学大学院 生命医科学研究科), 鎌田 蓮矢 (同志社大学大学院 生命医科学研究科), Theofilos Tourtas (University of Erlangen-Nürnberg, Department of Ophthalmology), Ursula Schlötzer-Schrehardt (University of Erlangen-Nürnberg, Department of Ophthalmology), Friedrich Kruse (University of Erlangen-Nürnberg, Department of Ophthalmology), 中原 マキ子 (アクチュアライズ株式会社), 小泉 範子 (同志社大学大学院 生命医科学研究科)

キーワード: 角膜内皮細胞, 細胞外マトリックス, 細胞株樹立, フックス角膜内皮ジストロフィ, TNR

【目的】フックス角膜内皮ジストロフィ (FECD) は細胞外マトリックス (ECM) の角膜後面への沈着による光の散乱および角膜浮腫により、視力低下を生じる疾患である。近年、*TCF4* における三塩基繰り返し配列 (TNR) の異常伸長を 20-80% の FECD 患者に認めることから TNR を創薬ターゲットとした研究が進められている一方で、伸長を有さない患者における病態解明や創薬はあまり進んでいない。本研究では、TNR 伸長の有無別に患者由来モデル細胞を樹立する。

【方法】FECD 患者 59 名から末梢血および角膜内皮を採取した。末梢血由来ゲノムにおける *TCF4* 遺伝子の TNR を STR アッセイと TP-PCR により測定した。血液ゲノムにおける TNR が 40 回未満 ($TNR < 40$) および 40 回以上 ($TNR \geq 40$) のドナー由来の細胞をそれぞれ 3 ロットずつ選択し不死化し、TNR について検討した。不死化した細胞株に TGF- β 2 を添加し、FECD 患者の角膜において沈着する ECM の遺伝子発現を qPCR により測定した。

【結果】FECD 患者由来の不死化角膜内皮細胞を TNR 伸長の有無に分けてそれぞれ 3 ロットずつ樹立した。全てのロットが多角形で単層構造の細胞形態を有していた。不死化角膜内皮細胞由来ゲノムと、血液ゲノムの TNR の回数は同程度であった。TGF- β 2 を添加することで *FN1*、*BGN*、*LTBP2* の発現が $TNR < 40$ 群でそれぞれ 2.2 ± 0.8 倍、 3.6 ± 2.2 倍、 5.5 ± 3.2 倍、 $TNR \geq 40$ 群で 1.8 ± 0.4 倍、 3.5 ± 0.9 倍、 9.9 ± 7.1 倍の発現が有意に上昇した。

【結論】TNR の伸長の有無別に FECD 角膜内皮細胞モデルを樹立した。本研究で樹立したモデル細胞を用いて、FECD の病態解明や薬物治療および遺伝子治療の開発への応用が期待できる。

フックス角膜内皮ジストロフィ患者由来角膜内皮細胞を用いた *TCF4* 遺伝子の病態への関与の検討

* 西内 豪 (同志社大学大学院 生命医科学研究科), 奥村 直毅 (同志社大学大学院 生命医科学研究科), 中川 達也 (同志社大学大学院 生命医科学研究科), 中原 マキ子 (アクチュアライズ株式会社), Theofilos Tourta (University of Erlangen-Nürnberg, Department of Ophthalmology), Ursula Schlötzer-Schrehard (University of Erlangen-Nürnberg, Department of Ophthalmology), Friedrich Kruse (University of Erlangen-Nürnberg, Department of Ophthalmology), Prema Padmanabhan (Department of Cornea and Refractive Surgery, Sankara Nethralaya, Chennai, India.), Sailaja Elchur (Department of Nanobiotechnology, Vision Research Foundation, Sankara Nethralaya Campus, Chennai, India.), Amit Chatterje (Department of Nanobiotechnology, Vision Research Foundation, Sankara Nethralaya Campus, Chennai, India.), Narayanan Janakiraman (Department of Nanobiotechnology, Vision Research Foundation, Sankara Nethralaya Campus, Chennai, India.), Gajanan Sathe (Institute of Bioinformatics, Bangalore, India.), Vivek Ghose (Institute of Bioinformatics, Bangalore, India.), 小泉範子 (同志社大学大学院 生命医科学研究科)

キーワード: フックス角膜内皮ジストロフィ, 角膜内皮細胞, 細胞外マトリックス, プロテオーム解析, アポトーシス

【目的】フックス角膜内皮ジストロフィ (FECD) は細胞外マトリックス (ECM) の沈着および角膜内皮細胞死により視力低下を生じる疾患である。多くの FECD 患者において *TCF4* の非翻訳領域における三塩基繰り返し配列の異常伸長を有するが、*TCF4* の病態への関与は不明点が多い。本研究は、FECD モデル細胞を樹立して *TCF4* の病態における役割を検討した。

【方法】FECD 患者から角膜内皮を取得し患者由来角膜内皮モデル細胞を樹立した。CRISPR/Cas9 により *TCF4* をノックアウトした。プロテオーム解析により *TCF4* の欠損がタンパク質発現に与える影響を網羅的に検討した。FECD 患者細胞および *TCF4* 欠損細胞を、これまでに患者角膜内皮で高発現している TGF- β により刺激し、フィブロネクチンおよび変性タンパク質の発現を検討した。さらにフローサイトメリーにより Annexin V を用いて *TCF4* 欠損が TGF- β により誘導されるアポトーシスに与える影響を解析した。

【結果】プロテオーム解析により、*TCF4* 欠損により 90 個のタンパク質が発現変動することが示された。GO 解析により、これらは ECM 形成や酸化ストレスへ関与することが示された。*In vitro* の検討において、TGF- β 刺激により FECD 患者細胞ではフィブロネクチンおよび変性タンパク質の高発現を認めしたが、*TCF4* 欠損細胞においてはこれらの発現が抑制された。フローサイトメリーにより Annexin V 陽性細胞が FECD 患者細胞において TGF- β により 9.6% から 35.8% に上昇したのに対して、*TCF4* 欠損細胞では TGF- β 存在下でも 9.6% と同程度であった。

【結論】角膜内皮において *TCF4* は FECD における ECM の過剰産生および TGF- β シグナル亢進による細胞死に関与している可能性がある。

上皮シート構造を維持する中間径線維ネットワークにおけるインテグリン $\alpha 6 \beta 4$ -プレクチン結合の重要性

* 平子 善章 (名古屋大学大学院理学研究科), 橋本 航 (名古屋大学大学院理学研究科), 浅倉 亮佑 (名古屋大学大学院理学研究科)

キーワード: ヘミデスモソーム, 細胞接着, 上皮, 中間径線維, 表皮

常に外力にさらされている表皮は、その基底細胞に存在し、ケラチン線維が結合する細胞-基質間の接着装置ヘミデスモソーム (HD) を介して結合組織と強固に結びついている。ヒト扁平上皮がん由来の DJM-1 細胞は HD 様の接着構造を形成する。前回の本大会にて、私は、HD 構成成分であるインテグリン $\beta 4$ 鎖を欠失した DJM-1 細胞をコンフルエンスに達するまで培養後、細胞層にプラスチックチップの先端で傷をつける (以下、スクラッチアッセイと呼ぶ) と、細胞がチップ先端の幅を超えて広く剥がれることを報告した。

今回、以下の実験をおこなったので結果を報告する。まず、私は、 $\beta 4$ 鎖欠失細胞で、細胞層がシート状構造を維持したまま大きく剥離するのは、HD を形成できない一方で、デスモソームにより細胞-細胞間でのケラチン線維の連結が維持されているためではないかと考えた。そこで、デスモプラーキンをノックダウンした $\beta 4$ 鎖欠失細胞でスクラッチアッセイを行ったところ、剥離幅はチップ先端とほぼ同じ幅に留まった。次に、私はインテグリン $\beta 4$ 鎖が、プレクチンを介したケラチン線維との結合を失った場合 ($\beta 4$ -R1281W 変異体) と細胞外リガンドへの結合能を失った場合 ($\beta 4$ -AD: $\beta 4$ -D230A/P232A/E233A 三重置換変異体) のそれぞれで、上皮シートの基質への結合力がどのように変化するのかを調べた。その結果、これらの変異体発現細胞では $\beta 4$ 鎖欠失細胞と同じようにチップ先端の幅を超えて剥離したが、その幅は欠失細胞よりは狭く、また、 $\beta 4$ -AD 発現細胞の方がより大きく回復した。以上の結果から、HD によるケラチン線維の基底側細胞膜への係留は代替の効かない必須の機能である事、また、DJM-1 細胞を用いたスクラッチアッセイは HD を介した上皮細胞シートと基質間の結合力を相対的に評価できる有効な実験手法であることが明らかとなった。

Human skin equivalents 実験系にラミニン 511 断片を添加すると、形成される基底膜様構造が強化される

* 藤崎ひとみ (株) ニッピ), 遠目塚千紗 (株) ニッピ), 水野一乗 (株) ニッピ), 渡邊敬文 (酪農学園大学), 西山敏夫 (東京農工大学), 友野靖子 (重井医学研究所), 服部俊治 (株) ニッピ)

キーワード: ラミニン, ラミニン 511 断片, 皮膚モデル, 基底膜様構造, 表皮角化細胞

ラミニン (LM) は、表皮角化細胞の接着や増殖に影響を与える。LM のひとつである LM511 は、多能性幹細胞の接着性を向上させ未分化状態を保ったまま増殖を促進する効果がある。またインテグリン $\alpha 3 \beta 1$, $\alpha 6 \beta 1$ が認識する LM511 の E8 領域断片、LM-511E8 が開発され培養基質として活用されている。LM-511E8 は使用に際して、コーティングのみならず培地に添加する方法でもコーティングと同等以上の効果があることが報告されている。しかしヒトの皮膚細胞に対する LM-511E8 の影響は未だ不明の点が多い。そこで我々はヒト皮膚オルガノイド、human skin equivalents (SE) を作製する際、表皮角化細胞播種時に LM-511E8 を培地に添加し、作製された SE の形態や遺伝子発現を、無添加の場合と比較した。透過型電子顕微鏡観察の結果、LM-511E8 添加群は、無添加群と比較して基底膜様構造の厚さに明確な差はなかったが、電子密度の高い部分がより連続的に観察された。また qPCR 解析では IV 型、VII 型コラーゲン遺伝子発現が増加していた。このことから LM-511E8 は基底膜成分産生促進に寄与し、真皮-表皮部分の係留を強化している可能性が示唆された。また、LM-511E8 が作用する細胞、さらにその作用機構を解明するため、LM-511E8 の局在を検討した。すると、免疫染色で表皮角化細胞の基底細胞層付近の細胞周囲が染色され、さらに免疫電顕で細胞間局在が確認された。

この結果は、培地に添加した LM-511E8 が細胞表面のインテグリンを介して基底層の表皮角化細胞と相互作用し、真皮様構造との境界に形成される基底膜様構造の成分産生を亢進した結果と考えられる。今後は LM-511E8 の作用機序を検討し、より有効な使用法を模索したいと考えている。

接着斑タンパク質 CAP の液-液相分離能の検証

* 山崎陵 (京都大学)

キーワード: 液-液相分離, 接着斑, メカノセンシング, 天然変性領域

液-液相分離とは混合系から液体が2つ以上の相へ分離する現象のことを指す。近年、細胞内において特定のタンパク質が液-液相分離を介して生理的な役割を持つことから「膜のないオルガネラ」として注目が集まっており、タンパク質の相分離には天然変性領域 (IDR) や多価結合性が重要であることが分かっている。細胞は接着斑と呼ばれるタンパク質複合体を介して細胞外マトリックス (ECM) と結合している。CAP は接着斑の構成タンパク質の1つであり、ECM の硬さ依存的な細胞挙動に必要な因子である。接着斑は特徴として特定の分子の濃縮や分子の高い流動性がみられるが、これらは相分離の特徴と一致している。また、CAP は IDR を有することが示唆されており、多価結合性を持つことが分かっている。以上のことから、CAP は相分離能を持ち、相分離を介して特定の接着斑タンパク質を濃縮するのではないかという仮説を立てた。そこで本研究ではこの仮説の検証を目的とし、細胞内での CAP および精製した CAP の相分離能について検討した。まず、FreeStyle293 浮遊細胞に発現させた His-GFP-CAP を Ni-NTA によるバッチ法で精製した。このタンパク質をさらにゲルろ過によって純度を向上させたところ、塩濃度 0.5 M の条件でタンパク質濃度に依存した液滴状の濃縮物が観察された。次に、GFP を融合した CAP をヒト胎児腎臓由来 HEK293 細胞へ過剰発現させ、その挙動を観察したところ、CAP は複数の球形を形成し、光褪色後蛍光回復法 (FRAP) によって高い蛍光回復を示した。今後は、欠変異体を用いて CAP の相分離に必要な領域を特定し、また細胞内の CAP の相分離を介した特定タンパク質の濃縮について検証する予定である。

インテグリン β 4 鎖セリン残基のアラニン置換によるヘミデスモソーム画分調製の効率化の検討

* 久保田 (名古屋大学大学院理学研究科理学専攻生命理学領域), 平子善章 (名古屋大学大学院理学研究科理学専攻生命理学領域)

キーワード: インテグリン, 細胞-基質間接着, ヘミデスモソーム

ヘミデスモソーム (HD) は、主に上皮組織に存在する細胞-基質間の接着タンパク質複合体である。本研究室では以前、無血清培地を用いて長期培養したヒト扁平上皮癌由来の培養細胞株 DJM-1 から HD の主要な 5 種類のポリペプチドとラミニン-332 を豊富に含む画分 (HD 画分) を単離する手法を確立し、報告した。HD 画分は自己免疫性表皮水疱症患者の抗原タンパク質の同定に有用であるが、必要な培養期間 (10 から 14 日間) の長いことが課題であった。先行研究によりインテグリン β 4 鎖のセリン残基 (S1356, S1360, S1364) をアラニン置換した非リン酸化型変異体 (β 4-3A) を発現する表皮角化細胞では HD が安定化されることが報告されていた。そこで本研究では β 4-3A 変異体を β 4 鎖欠失 DJM-1 細胞に安定発現させることにより HD 画分の作製に必要な培養期間を短縮できるのかを検討した。

作製した β 4-3A 発現細胞と野生型 β 4 鎖発現細胞を無血清培地地下で長期培養し、HD 形成過程を経時的に比較した。結果は予想に反して、 β 4-3A 発現細胞でのインテグリン α 6 β 4 の HD 構造への集積は野生型発現細胞と比較して明らかに遅くなっていた。また、それぞれの細胞から HD 画分を調製し、含まれる HD タンパク質の量を比較したところ、 β 4-3A 発現細胞の HD 画分に含まれるインテグリン β 4 鎖ポリペプチドは野生型発現細胞と比較して半分程度まで減少していた。本研究結果から、無血清培地地下の DJM-1 細胞で観察される I 型 HD 形成の促進とその蓄積の過程では β 4 鎖の脱リン酸化のみが進行しているのではなく、 β 4 鎖の脱リン酸化とリン酸化によるインテグリン α 6 β 4 のターンオーバーが重要であると考えられる。また、HD 画分調製に必要な長期培養期間の短縮化には、 β 4 鎖の他のリン酸化部位や他の HD タンパク質の改変を試みる必要があることがわかった。

ZO / アファディン欠損 F9 細胞におけるカドヘリンの局在と機能

* 裏山 悟司 (奈良県立医科大学 医学部), 新田 勇治 (奈良県立医科大学 医学部), 川島 牧 (奈良県立医科大学 医学部), 小林 千余子 (奈良県立医科大学 医学部), 永淵 昭良 (奈良県立医科大学 医学部)

キーワード: ZO, アファディン, AJ, 非上皮細胞, カドヘリン・カテニン複合体

カドヘリン・カテニン複合体は、細胞間接着装置アドヘレンスジャンクション (AJ) の主要構成因子である。この複合体はアクチン系細胞骨格と連携し、細胞間の強固な接着を担うことにより、動物の形づくりに関して重要な役割を果たしている。アクチンとの相互作用には α カテニンとそこに結合する ZO-1、アファディンなどのアクチン結合性の足場タンパク質が重要な役割を果たしている。この α カテニンを介したアクチンとの複雑な相互作用が、AJ の形成やカドヘリンの活性にどのような影響を持つのか不明な点が多い。非上皮細胞であるマウス奇形癌腫 F9 細胞では、カドヘリンが局在する細胞接着部位に、ZO-1 が含まれるものと含まれないものが存在することを既に報告している (Ozono K. et al., 2011)。本研究では ZO (ZO-1 および ZO-2) とアファディンをノックアウトした F9 細胞を作成し、これらの分子がカドヘリンの局在や機能に与える影響を調べた。高倍率での観察から、野生型 F9 細胞のカドヘリン・カテニン複合体は細胞上面では入り組んだ局在を示し、細胞側面では連続した局在を示すことが明らかになった。ZO-1 とアファディンは基本的には細胞上面でカドヘリンと同様の入り組んだ局在を示した。ZO をノックアウトした場合にはカドヘリンの局在は影響を受けなかったが、アファディンをノックアウトした場合には細胞上面の入り組んだカドヘリンの局在が消失した。さらにアファディンをノックアウトした細胞ではカドヘリンの強固な細胞間接着能も低減した。これらの結果は、F9 細胞では、1) アファディンが、カドヘリンの入り組んだ局在とカドヘリン依存性細胞間接着において重要な役割を果たしていること、2) 非上皮細胞においても、上皮細胞と同様に、細胞上部でのみカドヘリンと ZO-1/アファディンが共局在する AJ が形成されることが示唆された。

乾燥耐性細胞 Pv11 細胞における接着乾燥保存法の開発

* 布施 寛人 (東京大学大学院 新領域創成科学研究科 先端生命科学専攻 | 農業・食品産業技術総合研究機構 生物素材開発研究領域 生物機能利用研究部門), 黄川田 隆洋 (東京大学大学院 新領域創成科学研究科 先端生命科学専攻 | 農業・食品産業技術総合研究機構 生物素材開発研究領域 生物機能利用研究部門), CORNETTE Richard (農業・食品産業技術総合研究機構 生物素材開発研究領域 生物機能利用研究部門)

キーワード: 乾燥耐性, 細胞接着, 昆虫細胞

Pv11 細胞は、蘇生可能な状態で常温乾燥保存可能な唯一の動物培養細胞である。通常、動物細胞は凍結保護剤を添加して超低温で保存する必要があるが、Pv11 細胞は電力を用いず、低コスト、省スペースで長期間安定的に保存可能である。この Pv11 細胞はネムリユスリカから樹立された培養細胞である。ネムリユスリカはアフリカの半乾燥地帯に生息する昆虫であり、幼虫期にアンヒドロビオシスと呼ばれる、極限的な乾燥ストレスに耐える能力を持つ。Pv11 細胞もネムリユスリカと同様に乾燥耐性能力を持ち、トレハロース溶液に 48 時間浸漬することで 1 年以上常温乾燥保存可能である。また、Pv11 細胞は外来タンパク質としてルシフェラーゼを 1 年以上その酵素活性を保ったまま常温乾燥保存することに成功している。さらに CRISPR-Cas9 による遺伝子導入系も確立されており、Pv11 細胞は様々な応用が期待されている。一方で Pv11 細胞は浮遊細胞であるため活用の範囲が限られるというボトルネックが存在する。例えば、細胞に溶液を添加すると動いてしまうことからマイクロ流体デバイスに組み込んだり、センサーチップなどのデバイスに適合することができない。そのため Pv11 細胞を接着する手法、更には接着した状態で乾燥保存する手法の開発が求められる。そこで本研究では Pv11 細胞における接着系の開発を行なった。培養細胞でよく使われる既存の様々な接着系を Pv11 細胞において検討した結果、疎水性相互作用を利用した BAM、ムール貝由来の接着タンパク質であるセルタックで高い接着性を示した。さらにコーティング無しで培地中から FBS を取り除くことで高い接着性を示した。これらの接着手法を用い、トレハロース処理した細胞を接着し乾燥させると、接着を維持した状態で乾燥保存することに成功した。以上より Pv11 細胞における接着手法、接着乾燥保存法を確立することができた。

15:30-17:00 (2023-06-28 15:30 - 17:00 | ポスター会場)

P - D1 - P001 - 078

ホスホリパーゼ Cbeta による上皮細胞極性の調節機構

* 栗栖 修作 (徳島大学大学院医歯薬学研究部), 米村 重信 (徳島大学大学院医歯薬学研究部 | 理研・BDR・超微形態研究チーム)

キーワード: 上皮細胞極性, ホスホリパーゼ C, ホスホイノシタイド, タイトジャンクション, 細胞間接着

上皮細胞はアピカル膜とバソラテラル膜という二つの膜ドメインを形成し極性化することで上皮特有の機能を発揮できる。脊椎動物において、この二つの膜ドメインの境界はタイトジャンクション (TJ) が規定すると考えられてきたが、人為的に TJ 形成能を失なわせた上皮細胞でも境界を形成できることが判明しており、境界樹立の分子機構は未だ明らかでない。我々はこれまでに TJ/AJ 形成能を欠いたヒト上皮細胞 (R2/7 細胞) を用いて極性形成に必要な因子の RNAi スクリーニングを行い、幾つかの新規極性制御パスウェイを見出している。今回はその中でホスホイノシタイド代謝経路の phospholipase Cbeta (PLCbeta) が極性形成に重要な役割を果たしていることを報告する。R2/7 細胞ではノックダウンや PLCbeta 活性変異体を用いた解析から適切なリパーゼ活性が極性形成に必要であることが示された。一方、TJ/AJ を正常に形成する通常の培養上皮細胞では PLCbeta の機能喪失による極性の異常は軽微であった。しかし、PLCbeta の恒常的活性体はアピカル膜の喪失を誘導し、上皮間葉転換様の変化をもたらすことが観察された。以上の結果から、PLCbeta は極性形成を調節する因子であることが示唆された。その分子機構については現在解析中であるが、PLCbeta が TJ に局在することから、細胞全体ではなく境界部という局所での活性化が極性をコントロールしている可能性について検討している。

15:30-17:00 (2023-06-28 15:30 - 17:00 | ポスター会場)

P - D1 - P001 - 079

間葉系幹細胞の自己多層化には collagen-integrin interactions が必須である

* 望月 真衣 (日本歯科大学 生命歯科学講座 | 日本歯科大学生命歯学部 発生・再生医科学講座), 中原 貴 (日本歯科大学生命歯学部 発生・再生医科学講座)

キーワード: 歯髄幹細胞, Collagen, Integrin, 無血清培養, 自己多層化

我々は、細胞治療による安全な再生医療を目指し、間葉系幹細胞 (MSC) の一種であるヒト歯髄幹細胞 (hDPSC) を用いた無血清培養法を確立してきた。さらに、適切な無血清培養下において、hDPSC 自身が豊富な細胞外マトリックスを産生し、自律的に多層化 (自己多層化) するユニークな特徴を持つことを明らかにした。本研究は、hDPSC が有する自己多層化メカニズムを解明することを目的とした。

実験は、hDPSC に加えて、ヒト骨髄幹細胞 (hBMSC) を用いて無血清培養条件下でそれぞれの幹細胞群を培養した。培養 10 日目において、hDPSC は自己多層化を示した一方、hBMSC はコンフルエントに達して単層を示し、多層化を認めなかった。そこで、RNA-sequencing によるエンリッチメント解析を行うと、hDPSC は hBMSC に比べ、extracellular matrix organization および cell adhesion が有意にエンリッチされていることがわかった。また両幹細胞群を経時的にタンパク質発現解析すると、hDPSC では type 1 collagen が経時的に発現上昇する一方で、hBMSC は発現の上昇を認めなかった。さらに、hDPSC は integrin $\alpha 2$ を維持したが、hBMSC は経時的に発現が減少した。また、integrin $\alpha 2$ 陰性の hDPSC をセルソーターで分離し培養すると細胞は増殖するものの自己多層化は示さなかった。

以上より hDPSC は、自らが産生するコラーゲンを足場として持続的に integrin $\alpha 2$ を発現し、さらに活発な増殖を示しながらコラーゲンを豊富に産生するという collagen-integrin interactions により自己多層化することが示唆された。現在は、MSC においてコラーゲン産生におけるトリガー因子およびシグナル特定の解析をすすめている。

がん細胞における内部標準遺伝子の発現はメバロン酸経路の阻害により変動する

* 入江 七海 (関西学院大学大学院 理工学研究科), 割田 克彦 (鳥取大学 農学部獣医解剖), 田代 二郎 (鳥取大学 農学部獣医解剖), 周 雅軒 (関西学院大学大学院 理工学研究科), 石川 拓郎 (愛知医科大学 医学部), Zoltán N. Oltvai (ロチェスター大学 医学部), 割田 友子 (関西学院大学 生命環境学部)
キーワード: がん細胞, スタチン, 内部標準遺伝子, RT-qPCR, β アクチン

脂質異常症の治療薬として用いられているスタチンは、血中のコレステロール値の低下薬であるが、近年、ドラッグリポジショニングによりがん治療薬としての応用が期待されている。メバロン酸経路はコレステロールの合成以外にも、脂質修飾や電子伝達系に関わる分子なども生成するため、スタチンはメバロン酸経路を阻害することによって細胞に幅広い影響を与えられと考えられる。RT-qPCRにおいて、内部標準遺伝子は標的遺伝子の発現量の補正に用いるため、内部標準遺伝子として用いる遺伝子自体が実験条件に左右されないことが求められる。様々なシグナル系に影響を及ぼすと考えられるスタチンは、内部標準遺伝子の安定性に影響を及ぼす可能性が高い。そこで、本研究では、スタチン処置がん細胞における内部標準遺伝子の発現安定性を評価した。

肺がん由来のがん細胞株2種類、前立腺がん由来のがん細胞株2種類、メラノーマ由来のがん細胞株2種類を解析に用い、アトルバスタチンを0.1-30 μ Mの濃度で24時間処置した。内部標準遺伝子として15種類のハウスキーピング遺伝子を用いてRT-qPCRを行い、Comparative Δ Ct method (Silver *et al.*, 2006)に基づいて発現安定性を評価した。

全ての細胞株において、アトルバスタチンの濃度依存的に発現が変動する内部標準遺伝子が認められ、アトルバスタチンが特定の内部標準遺伝子の安定性に影響を及ぼすことが明らかとなった。また、がん細胞株依存的に発現が変動する内部標準遺伝子の存在が明らかとなり、細胞間の発現比較をする際には注意が必要であることが示唆された。さらに、スタチン添加実験系において最も安定な内部標準遺伝子はRPLP2であり、一般的によく用いられる β アクトチンは安定性が低く、スタチンを用いた実験の遺伝子発現解析には適さない。

Primary Cilium-dependent Humoral Bioactive Factors Control Fibroblast Cell Migration and Proliferation

* Faryal Ijaz (Graduate of Biomedical and Health Sciences, Hiroshima University), Koji Ikegami (Graduate of Biomedical and Health Sciences, Hiroshima University)

キーワード: Primary Cilium, Ciliopathies

Primary cilium is a hair-like structure found on the surface of most mammalian cells. It serves as a sensory antenna that allows cells to sense and respond to their environment. Primary cilium plays a crucial role in the regulation of many cellular processes, including proliferation, differentiation, and development. Defects in primary cilium structure and function cause a group of disorders called ciliopathies, leading to a wide range of clinical manifestations. Cell-intrinsic mechanisms of ciliopathies have been well studied. In contrast, cell-extrinsic factors that underlie ciliopathies have barely been explored. Here we investigated the effects of extracellular bioactive factors derived from wildtype NIH/3T3 cells culture supernatant on the migration/ proliferation of primary cilium-deficient NIH/3T3-Kif3a-KO after wounding. The factors derived from wildtype NIH/3T3 cells culture supernatant increased the rate of cell migration/proliferation in target cells as compared to the factors derived from primary cilium-deficient cells culture supernatant from NIH/3T3-Kif3a-KO cells and NIH/3T3-Dync2h1-KO cells. Furthermore, by omics analysis of the supernatants, we found a molecule that showed a decline in the culture supernatant of primary cilium-deficient cells. These findings suggest that fibroblasts regulate cellular migration/proliferation process in primary cilium-deficient target cells via cell-extrinsic regulatory mechanisms in a primary cilium-dependent manner.

15:30-17:00 (2023-06-28 15:30 - 17:00 | ポスター会場)

P - D1 - P001 - 082

機械刺激依存的な Ca^{2+} 波の伝搬がアポトーシス細胞の排除を駆動する

* 山田 壮平 (弘前大学理工学研究科 | 奈良先端科学技術大学院大学物質創成科学領域), 安國 良平 (奈良先端科学技術大学院大学物質創成科学領域 | 大阪工業大学工学部), 別所 康全 (奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス領域), 藤田 恭之 (京都大学大学院医学研究科), 細川 陽一郎 (奈良先端科学技術大学院大学物質創成科学領域), 松井 貴輝 (奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス領域)

キーワード: ゼブラフィッシュ, メカノバイオロジー, collective cell migration

カルシウム (Ca^{2+}) 波の伝搬は、胚発生過程や神経伝達などにおける細胞間コミュニケーションの制御に関与している。細胞膜や小胞体に存在する複数の Ca^{2+} チャネルは、単一細胞内の細胞質 Ca^{2+} の上昇に寄与し、ギャップジャンクションは Ca^{2+} 波の細胞間伝播に寄与している。最近、我々は、上皮シートに発生したアポトーシス細胞の排除時に細胞間 Ca^{2+} 波の伝播が起こることを示したが、アポトーシス細胞排除時の細胞間 Ca^{2+} 波伝播の分子機構や生物学的意義は未解明であった。ここでは、アポトーシス細胞からギャップジャンクションを介さずに周囲の細胞に Ca^{2+} 波が伝播することを示し、機械感受性 Ca^{2+} チャネルとして機能する *trpc1*、*piezo1* や inositol 1,4,5-trisphosphate receptor が細胞間波伝播に関与することを見出した。細胞動態と Ca^{2+} レベルを経時的に測定すると、細胞変形と Ca^{2+} 波の伝搬現象の間に、機械感受性 Ca^{2+} チャネルが介在する因果関係を見出した。まず、レーザー照射によりゼブラフィッシュ胚上皮シートにアポトーシス細胞を誘導すると、アポトーシス細胞は Ca^{2+} の過渡変化を伴いながら収縮した。縮んだアポトーシス細胞は、隣接する上皮細胞の端が引っ張られ、隣接する細胞の伸張が起こる。細胞伸長により、機械感受性 Ca^{2+} チャネルが開き、隣接する細胞で Ca^{2+} の過渡現象が発生する。さらに、細胞間 Ca^{2+} 波動伝播により、葉状仮足形成と collective cell migration によるアポトーシス細胞排除が促進される。最後に、機械感受性 Ca^{2+} チャネルを阻害することでアポトーシスが阻害されることを示した。したがって、本成果は、これまで知られていなかった力学的メカニズムによって発生した Ca^{2+} 波が、アポトーシス細胞の押し出しを促進することを明らかにした。

15:30-17:00 (2023-06-28 15:30 - 17:00 | ポスター会場)

P - D1 - P001 - 083

微小管の翻訳後修飾と細胞内輸送のダイナミクス

* 小林 美穂 (東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 病態生化学分野), 廣瀬 穂香 (東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 病態生化学分野), 小林 ゆめ (東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 病態生化学分野 | 北里大学 理学部 生物科学科 細胞生物学講座), 渡部 徹郎 (東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 病態生化学分野)

キーワード: 微小管, 細胞内輸送, エンドソーム, シグナリング

微小管を構成する α -チューブリンは様々な翻訳後修飾を受けることで微小管の機能に影響している。その中でも α -チューブリンのC末端のチロシン残基が切断される脱チロシン化については、 α -チューブリンを遺伝子改変させた生化学的解析により、微小管上を動く分子モーターの運動性に影響することが報告されているが、生理的な機能や役割には未だ不明な点が多く残されている。私たちはこれまでに、血管内皮細胞において α -チューブリンの脱チロシン化を直接誘導する酵素である *vasohibin-1* (VASH1) が血管新生誘導刺激によって増加して脱チロシン化型チューブリン (ΔY -チューブリン)を増加させることを見出しており、VASH1 によって ΔY -チューブリンが増加した血管内皮細胞では受容体のエンドサイトーシスが干渉されることで血管新生シグナル伝達が阻害され、その結果として血管新生が抑制されることを明らかにしている。しかし、実際に細胞内で α -チューブリンの脱チロシン化 / チロシン化がどのように変化して存在しているのか、そして ΔY -チューブリンの増加がどのようにしてエンドサイトーシスの干渉を導くのかの詳細は不明であった。今回私たちは、細胞内での α -チューブリンの脱チロシン化 / チロシン化の動的変化を可視化し、エンドソームの動態と組み合わせてライブイメージング観察することで、 ΔY -チューブリンが細胞内輸送に及ぼす影響を詳細に解析することに成功したので、その成果を報告する。

15:30-17:00 (2023-06-28 15:30 - 17:00 | ポスター会場)

P - D1 - P001 - 084

グラフェンを用いたバイオセンサーの可能性

* 伊藤 翔碧 (福岡大学附属大濠高等学校)

キーワード: アレルギー, IgE, 糖鎖, バイオセンサー, グラフェン

半導体性質が知られているグラフェン。その抵抗値の変化によって、グラフェン上の物質を検知可能な高精度のセンサーの研究が、大阪大学で進められている。さらに、グラフェン上に仮想的な糖鎖を作成し、糖鎖へのウイルスの結合を検出できる、バイオセンサーとしての活用が期待されている。そこで今回私が目をつけたのは、アレルギー症状における、抗原の糖鎖と IgE 抗体の結合である。抗原が IgE への結合に用いる糖鎖は、その抗原によって異なる。小麦、スギ、ダニなどの抗原の糖鎖を、グラフェン上に再現し、体液等を添加し抵抗値を測ることで、抗原と体液中の IgE との結合量を評価できると考える。

インフルエンザウイルス感染促進機構の解明

* 小澤 史弥 (北海道大学大学院 医学研究院 細胞生理学教室), 藤岡 容一郎 (北海道大学大学院 医学研究院 細胞生理学教室), 吉田 藍子 (北海道大学大学院 医学研究院 細胞生理学教室), 柏木 彩花 (北海道大学大学院 医学研究院 細胞生理学教室), 釜崎 とも子 (北海道大学大学院 医学研究院 細胞生理学教室), 酒井 信明 (北海道大学大学院 医学研究院 細胞生理学教室), 天野 麻穂 (北海道大学大学院 医学研究院 細胞生理学教室), 大場 雄介 (北海道大学大学院 医学研究院 細胞生理学教室)

キーワード: A 型インフルエンザウイルス, カルシウムイオン, 広視野イメージング, Ca^{2+} wave

我々はこれまで、蛍光イメージングを用いてウイルスに対する細胞応答を研究してきた。例えば、インフルエンザウイルスにより細胞内カルシウム濃度が上昇し、エンドサイトーシスの亢進を介してウイルス粒子が細胞内に取り込まれることを明らかにしている (Fujioka et al, *Nat. Commun.* 2013; Fujioka et al, *Cell Host Microbe* 2018)。本研究では、カルシウムバイオセンサーを恒常的に発現するイヌ腎臓由来 MDCK 細胞およびヒト気道上皮由来 BEAS-2B 細胞を樹立し、インフルエンザウイルス感染過程における細胞集団レベルでのカルシウム動態を、Matrigel を用いた三次元培養系でライブセルイメージングした。ウイルスを細胞に暴露してから 48 時間経時的に細胞内カルシウムダイナミクスを観察したところ、12 時間後より感染細胞から周囲の細胞へとカルシウム濃度上昇の波が伝播する現象 (calcium wave propagation) が捉えられた。この calcium wave propagation は暴露 12 時間後から認められ、発生数は 24 時間後に最大となった。ウイルス感染細胞数は、暴露 24 時間後に急激に増加したことから、calcium wave propagation が感染を促進するのではないかと考えられた。また、calcium wave propagation には感染細胞から分泌される小分子が重要であること、およびこの小分子によるパラクリンシグナリングを阻害することでウイルス感染が抑制されることが明らかとなった。以上から、インフルエンザウイルスはこのパラクリンシグナリングを介して感染細胞の周囲の細胞のカルシウム濃度を上昇させ、感染に有利な環境を作り出すことが示唆された。

2023年6月29日（木）

2日目

ポスター発表

ポスター発表 (2日目)

2023/6/29 16:00 ~ 17:30 | ポスター会場

座長: Tamotsu Yoshimori (Osaka University)

細胞内輸送・オルガネラ・生体膜・タンパク質の一生、最新技術

P - D2 - P001 - 001

核移行因子 importin α 5/KPNA1 は神経細胞において核小体の形態の制御に関与する

* 久富 理 (福井大学 医学系部門 分子生体情報学), 水野 克俊 (福井大学 医学系部門 分子生体情報学), 宮本 洋一 (医薬基盤・健康・栄養研究所 細胞核輸送ダイナミクスプロジェクト), 岡 正啓 (医薬基盤・健康・栄養研究所 細胞核輸送ダイナミクスプロジェクト), 山田 雅己 (福井大学 医学系部門 分子生体情報学)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 002

ミトコンドリア-ER間におけるATPaseを介した膜タンパク質の再配送機構

* 小野 鈴花 (京都産業大学 生命科学部 | 京都産業大学 タンパク質動態研究所), 松本 俊介 (九州大学大学院 農学研究院), 遠藤 斗志也 (京都産業大学 生命科学部 | 京都産業大学 タンパク質動態研究所)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 003

VAMP5はSNAP23の構造を変化させることでファゴソーム成熟に間接的に機能する

* 櫻井 千恵 (鳥取大・医・生命科学・分子生物), 河野 信 (鳥取大・医・生命科学・分子生物), 初沢 清隆 (鳥取大・医・生命科学・分子生物)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 004

微小管架橋因子MTCL2によってゴルジ近傍に形成される微小管ネットワークは初期小胞輸送を負に制御する

* 藤野 慈乃 (横浜市立大学大学院 生命医科学研究科 分子細胞医科学研究室), 鈴木 厚 (横浜市立大学大学院 生命医科学研究科 分子細胞医科学研究室)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 005

ショウジョウバエを用いたメバロン酸キナーゼ欠損によるロドプシン輸送阻害と網膜変性症の解析

* 佐々木 捷梧 (広島大学総合科学部総合科学科), 佐藤卓至 (広島大学統合生命科学研究科), 佐藤明子 (広島大学統合生命科学研究科)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 006

細胞膜ステロール活性化を制御する因子の探索とその制御メカニズムの解析

* 岸本 拓磨 (北海道大学・遺伝子病制御研究所・分子間情報分野), 賈 子木 (北海道大学・遺伝子病制御研究所・分子間情報分野), 錢 宇恒 (北海道大学・遺伝子病制御研究所・分子間情報分野), 田中 一馬 (北海道大学・遺伝子病制御研究所・分子間情報分野)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 007

繊毛虫テトラヒメナにおけるATG8の機能解析

* 松田真弥 (筑波大・生命環境 | 筑波大・生命環境・生物), 齊藤知恵子 (東大・院医), 野村真未 (山形大・理), 川原瞳 (筑波大・生命環境・生物), 水島昇 (東大・院医), 中野賢太郎 (筑波大・生命環境 | 筑波大・生命環境・生物)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 008

オートファジーによるRNA分解と修飾ヌクレオシドの細胞外排出経路の解析

* 久保田 満聖 (大阪大学 大学院 生命機能研究科), 魏 范研 (東北大学 加齢医学研究所), 岡本 浩二 (大阪大学 大学院 生命機能研究科)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 009

HSP70 核移行運搬体分子 Hikeshi が制御する細胞ストレス応答とその役割

* 小瀬 真吾 (理研・開拓研究本部・今本細胞核機能研究室), 渡邊 愛 (理研・開拓研究本部・今本細胞核機能研究室), 今本 尚子 (理研・開拓研究本部・今本細胞核機能研究室)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 010

Role of quinone on mtDNA dynamics and mitochondrial activity

* PAL SOUMYADIP (大阪大学大学院理学研究科)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 011

上皮間葉転換に伴う脂質代謝バランスの変化はコレステロールの過剰蓄積を引き起こす

* 松本 惇志 (九州大学 理学研究院), 猪子 誠人 (愛知医科大学 医学部 | 愛知県がんセンター), 細田 和貴 (愛知県がんセンター), 小島 崇宏 (愛知県がんセンター), 大西 紘二 (愛知医科大学 医学部), 池ノ内 順一 (九州大学 理学研究院)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 012

F-BAR タンパク質 PACSIN2 の脂肪細胞分化と脂肪滴形成への関与

* 松本 侑也 (奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域 分子医学細胞生物学研究室), 稲葉 岳彦 (奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域 分子医学細胞生物学研究室), 末次 志郎 (奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域 分子医学細胞生物学研究室)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 013

選択的オートファジーによる p62 液滴分解の新規制御因子の同定

* 高田 周平 (順天堂大学医学部生理学第二講座 | 共同筆頭著者), 船越 智子 (順天堂大学医学部生理学第二講座 | 共同筆頭著者), 森下 英晃 (順天堂大学医学部生理学第二講座), 小松 雅明 (順天堂大学医学部生理学第二講座)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 014

核-液胞間コンタクトサイトの新規因子の同定と機能解析

* 藤本慎太郎 (山形大学大学院理工学研究科), 田村康 (山形大学理学部)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 015

PI (3,5)P₂ 産生酵素による STING のリソソーム内包化制御

* 東海林 紘 (東北大学 生命科学研究科 細胞小器官疾患学分野), 朽津 芳彦 (東北大学 生命科学研究科 細胞小器官疾患学分野), 篠島 あゆみ (東北大学 生命科学研究科 細胞小器官疾患学分野), 向井 康治朗 (東北大学 生命科学研究科 細胞小器官疾患学分野), 田口 友彦 (東北大学 生命科学研究科 細胞小器官疾患学分野)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 016

Small GTPase Cdc42, WASP, and scaffold proteins for higher-order assembly of the F-BAR domain protein

* Cheong Theng Ho (Nara Institute of Science and Technology), Wan Nurul Izzati Wan Mohamad Noor (Nara Institute of Science and Technology), Nhung Thi Hong Nguyen (Nara Institute of Science and Technology), Min Fey Chek (Nara Institute of Science and Technology), Toshio Hakoshima (Nara Institute of Science and Technology), Takehiko Inaba (Nara Institute of Science and Technology), Kyoko Hanawa-Suetsugu (Doshisha University), Tamako Nishimura (Nara Institute of Science and Technology), Shiro Suetsugu (Nara Institute of Science and Technology)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 017

メラニンを介した角化細胞と色素細胞の相互作用

* 清水萌 (岡山大学工学部化学生命系学科オルガネラシステム工学研究室), 柿丸沙耶 (岡山大学工学部化学生命系学科オルガネラシステム工学研究室), 佐藤あやの (岡山大学工学部化学生命系学科オルガネラシステム工学研究室)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 018

植物における細胞融合因子の同定と解析

* 丸山 大輔 (横浜市立大学 木原生物学研究所), 須崎 大地 (横浜市立大学 木原生物学研究所), 太田 かおる (横浜市立大学 木原生物学研究所), 木下 哲 (横浜市立大学 木原生物学研究所)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 019

新規ヒト小胞体 - リソソーム間コンタクトサイト局在タンパク質の同定と機能解析

* 田代晋也 (山形大学理学部), 高橋賢司 (山形大学理学部), 尾野雅哉 (国立がん研究センター研究所), 吉丸哲郎 (徳島大学先端酵素学研究所), 片桐豊雅 (徳島大学先端酵素学研究所), 田村康 (山形大学理学部)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 020

ABCC6 (MRP6) の局在する細胞内管状膜構造の生理的意義

* 永田 紅 (京都大学高等研究院物質 - 細胞統合システム拠点 (iCeMS)), 今村 博臣 (京都大学大学院生命科学研究科), 木岡 紀幸 (京都大学大学院農学研究科), 植田 和光 (京都大学高等研究院物質 - 細胞統合システム拠点 (iCeMS))

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 021

Mitochondrial autophagy is carried out by microautophagy in macrophages.

* Lu Shiou-Ling (大阪大学大学院歯学研究科 口腔科学フロンティアセンター | 大阪大学生命機能研究科 | 大阪大学微研), Chen Siyu (大阪大学大学院歯学研究科 口腔科学フロンティアセンター), Kazuya Noda (大阪大学大学院歯学研究科 口腔科学フロンティアセンター | 大阪大学歯学研究科 口腔治療学教室), Kanako Tokuda (大阪大学生命機能研究科), Hiroko Omori (大阪大学微研), Chao-Yuan Tsai (大阪大学免疫フロンティアセンター), Hitoshi Kikutani (大阪大学免疫フロンティアセンター), Yoh Wada (大阪大学産業科学研究科), Mitsunori Fukuda (東北大学生命科学研究科), Shinya Murakami (大阪大学歯学研究科 口腔治療学教室), Takeshi Noda (大阪大学大学院歯学研究科 口腔科学フロンティアセンター | 大阪大学生命機能研究科)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 022

Nuclear transport surveillance of TP53 in glioblastoma

* Dini Kurnia Ikliptikawati (Kanazawa University), Nozomi Hirai (Kanazawa University), Kei Makiyama (Kanazawa University), Hemragul Sabit (Kanazawa University), Masashi Kinoshita (Kanazawa University), Keesiang Lim (Kanazawa University), Makiko Meguro-Horike (Kanazawa University), Shin-ichi Horike (Kanazawa University), Masaharu Hazawa (Kanazawa University), Mitsutoshi Nakada (Kanazawa University), Richard W. Wong (Kanazawa University)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 023

Ykt6 はシス槽からトランス槽への順行性ゴルジ体内輸送を制御する

* 後藤孝太 (東北大学加齢医学研究所基礎加齢研究分野), 立石正規 (東北大学加齢医学研究所基礎加齢研究分野), 堀内久徳 (東北大学加齢医学研究所基礎加齢研究分野), 白川龍太郎 (東北大学加齢医学研究所基礎加齢研究分野)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 024

神経系 MML-1/MXL-2 による組織間コミュニケーションを介した寿命制御機構の解明

* 塩田 達也 (大阪大学大学院 生命機能研究科 細胞内膜動態研究室), 高橋 一徹 (大阪大学大学院 生命機能研究科 細胞内膜動態研究室), 池中 建介 (大阪大学大学院 医学系研究科 神経内科学教室), 神吉 智文 (新潟大学大学院 医歯学総合研究科 機能制御学分野), 岡 敏彦 (立教大学大学院 理学研究科 分子細胞生物学研究室), 望月 秀樹 (大阪大学大学院 医学系研究科 神経内科学教室), Adam Antebi (Max Planck Institute for Biology of Ageing, Molecular Genetics of Ageing), 吉森 保 (大阪大学大学院 生命機能研究科 細胞内膜動態研究室 | 大阪大学大学院 医学系研究科 遺伝学教室 | 大阪大学 先導的学際研究機構 生命医科学融合フロンティア研究部門), 中村 修平 (大阪大学大学院 生命機能研究科 細胞内膜動態研究室 | 大阪大学大学院 医学系研究科 遺伝学教室 | 大阪大学 高等共創研究院)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 025

線虫受精卵における ALLO-1 の父性オルガネラ局在化機構の解析

* 法月 拓也 (群馬大学 生体調節研究所), 佐々木 妙子 (群馬大学 生体調節研究所), 榎田 康晴 (群馬大学 生体調節研究所), 野田 展生 (北海道大学 遺伝子病制御研究所), 佐藤 健 (群馬大学 生体調節研究所), 佐藤 美由紀 (群馬大学 生体調節研究所)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 026

オートファジーに必須の Atg1 複合体と Atg2-Atg18 複合体の相互作用の解析

* 安田悠莉 (東工大・生命理工), 人見佳菜恵 (東工大・生命理工), 小谷哲也 (東工大・生命理工), 中戸川 仁 (東工大・生命理工)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 027

オルガネラ膜損傷を人為的に誘導する光遺伝学ツールの開発

* 長島 悠斗 (東京大学 医学部・大学院医学系研究科 分子生物学教室)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 028

Unraveling selectivity in endoplasmic reticulum autophagy : a search for proteins preferentially degraded via ER-phagy

* Morozova Ekaterina (Tokyo Institute of Technology, School of Life Science and Technology)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 029

中心小体 de novo 形成機構の解析

* 工 風清 (東京大学大学院薬学系研究科), 畠 星治 (東京大学大学院薬学系研究科), 北川 大樹 (東京大学大学院薬学系研究科)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 030

Atg39 のリン酸化を介したヌクレオファジーの制御機構

* 富所 暁 (東京工業大学生命理工学院)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 031

ゴルジ体 PI4 キナーゼ Pik1p, Frq1p によるポストゴルジ体輸送経路を介したエンドサイトーシス経路の制御

* 栗原 里璃子 (東京理科大学)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 032

小胞体ストレス応答の転写因子 XBP1u の翻訳機構の解析

* 小森亮太 (奈良先端科学技術大学院大学 | 兵庫県立大学)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 033

Toll 様受容体 4 依存的なファゴサイトーシス反応における VPS33B の機能

* 熊野 公祐 (鳥取大・医・生命科学・分子生物), 高橋 美紀 (鳥取大・医・生命科学・分子生物), 初沢 清隆 (鳥取大・医・生命科学・分子生物)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 034

細胞膜 PIP₂ 反転酵素の探索

* 岡村 優花 (東京薬科大学大学院 ゲノム情報医科学研究室, 東京薬科大学大学院 ゲノム病態医科学研究室), 栗村 緑 (東京薬科大学大学院 ゲノム病態医科学研究室), 高井 えりか (東京薬科大学大学院 ゲノム病態医科学研究室), 深見 希代子 (東京薬科大学大学院 ゲノム病態医科学研究室), 米田 敦子 (東京薬科大学大学院 ゲノム情報医科学研究室, 東京薬科大学大学院 ゲノム病態医科学研究室)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 035

ポストゴルジ輸送による出芽酵母 Rab5 ホモログ Vps21p の活性化機構の解明

* 高橋 渚 (東京理科大学先進工学研究科生命システム工学専攻十島研究室)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 036

ショウジョウバエ SNARE の網羅的機能解析 II—小胞体とゴルジ体間輸送に関わる SNARE

* 多胡 辰哉 (広島大学 大学院統合生命科学研究科)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 037

ショウジョウバエ SNARE の網羅的機能解析 I—極性輸送に関わる SNARE

* 佐藤 明子 (広島大学 統合生命科学研究科), 越智 優果 (広島大学 統合生命科学研究科), 山下 愛美 (広島大学 統合生命科学研究科), 佐々木 捷梧 (広島大学 統合生命科学研究科), 山田 祐実 (広島大学 統合生命科学研究科), 多胡 辰哉 (広島大学 統合生命科学研究科), 小川 巧 (広島大学 統合生命科学研究科), 佐藤 卓至 (広島大学 統合生命科学研究科)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 038

線虫 *C. elegans* の受精プロセスにおける卵母細胞膜タンパク質の動態解析

* 杉浦 健太 (群馬大学生体調節研究所), 佐藤 健 (群馬大学生体調節研究所)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 039

ホスホリパーゼ C 様タンパク質の局在及び生理機能解析

* 金丸 佳織 (東京理科大学 創域理工学部), 八代 桃香 (東京理科大学 創域理工学部), 宇佐見 陸 (東京理科大学 創域理工学部), 森田 真帆 (東京理科大学 創域理工学部), 岩田 和子 (東京理科大学 創域理工学部), 佐々木 純子 (東京医科歯科大学 難治疾患研究所), 長谷川 純矢 (東京医科歯科大学 難治疾患研究所), 中村 由和 (東京理科大学 創域理工学部), 佐々木 雄彦 (東京医科歯科大学 難治疾患研究所)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 040

微小管結合タンパク質 CAMSAP2 はゴルジ体由来の小胞を増加させることでミトコンドリア分裂を促進する

* 新井理究 (早稲田大学・先進理工・生命医科学), 戸谷美夏 (早稲田大学・国際理工学・Bioscience), 佐藤政充 (早稲田大学・先進理工・生命医科学 | 早稲田大学・構造生物・創薬研)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 041

Intraflagellar transport dynamics between the two flagella in *Chlamydomonas reinhardtii*

* Hiroaki Ishikawa (University of California, San Francisco), Wallace Marshall (University of California, San Francisco)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 042

in vitro 再構成系を用いた膜間コンタクトの可視化手法の確立

* 山本 啓 (京都大学 理学研究科), 宮崎 牧人 (京都大学 理学研究科 | 理化学研究所 生命機能科学研究センター | キュリー研究所 | JST さきがけ), 島本 勇太 (国立遺伝学研究所 | 総合研究大学院大学 生命科学研究科)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 043

USP48 Impairs Lysosomal Function to Enhance Stability of Amyloid Precursor Protein and Production of Amyloid-beta

* Yung-Feng Liao (Academia Sinica), Po-Fan Wu (Academia Sinica), Yun-Wen Chen (Academia Sinica)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 044

高浸透圧ストレス下で形成される p62 顆粒の分子基盤

* 田村 直輝 (福島県立医科大学 医学部), 和栗 聡 (福島県立医科大学 医学部)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 045

ポストゴルジ輸送を介した酵母 Rab5 ホモログ Vps21p 活性化機構の解明

* 島村 洋輝 (東京理科大学先進工学部生命システム工学科)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 046

ULK1 による p62 液滴のリン酸化は、レドックス非依存的なストレス応答を制御する

* 一村 義信 (順天堂大学大学院 医学研究科 器官・細胞生理学), 池田 良 (順天堂大学大学院 医学研究科 器官・細胞生理学 | 新潟大学大学院 医歯学総合研究科 耳鼻咽喉科・頭頸部外科学分野), 能代 大輔 (北海道大学 遺伝子病制御研究所 生命分子機構分野), 森下 英晃 (順天堂大学大学院 医学研究科 器官・細胞生理学), 高田 周平 (順天堂大学大学院 医学研究科 器官・細胞生理学), 蔭山 俊 (順天堂大学大学院 医学研究科 器官・細胞生理学), 藤岡 優子 (北海道大学 遺伝子病制御研究所 生命分子機構分野), 船越 智子 (順天堂大学大学院 医学研究科 器官・細胞生理学), 小松 聡子 (順天堂大学大学院 医学研究科 器官・細胞生理学), 荒井 律子 (福島県立医科大学 医学部 解剖・組織学講座), Ryzhii Elena (福島県立医科大学 医学部 解剖・組織学講座), 阿部 学 (新潟大学 脳研究所 モデル動物開発分野), 古賀 友紹 (熊本大学 発生医学研究所 発生制御部門 細胞医学分野), 中尾 光善 (熊本大学 発生医学研究所 発生制御部門 細胞医学分野), 崎村 建司 (新潟大学 脳研究所 モデル動物開発分野), 堀井 新 (新潟大学大学院 医歯学総合研究科 耳鼻咽喉科・頭頸部外科学分野), 和栗 聡 (福島県立医科大学 医学部 解剖・組織学講座), 野田 展生 (北海道大学 遺伝子病制御研究所 生命分子機構分野), 小松 雅明 (順天堂大学大学院 医学研究科 器官・細胞生理学)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 047

卵母細胞-胚遷移において後期エンドソーム / リソソーム活性を制御する新規因子 GREN-1 の解析

* 須藤 俊一 (群馬大学・生体調節研究所・細胞構造分野), 寺岡 滉一 (群馬大学・生体調節研究所・細胞構造分野), 川崎一郎 (群馬大学・生体調節研究所・細胞構造分野), 佐藤 美由紀 (群馬大学・生体調節研究所・生体膜機能分野), 佐藤 健 (群馬大学・生体調節研究所・細胞構造分野)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 048

オートファゴソーム膜を介した筋小胞体のリモデリング

* 葛西友梨 (東京工業大学大学院 生命理工学院), 藤田尚信 (東京工業大学大学院 生命理工学院 | 東京工業大学 科学技術創成研究院 細胞制御工学研究センター)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 049

膜ダイナミクスに連動したメンブレンコンタクト形成の時空間制御

* 佐藤 耀 (新潟大学大学院 医歯学総合研究科 分子細胞機能学分野), 河崎 麻実 (新潟大学大学院 医歯学総合研究科 分子細胞機能学分野), 吉武 佳慧 (新潟大学大学院 医歯学総合研究科 分子細胞機能学分野), 五十嵐 道弘 (新潟大学大学院 医歯学総合研究科 分子細胞機能学分野), 中津 史 (新潟大学大学院 医歯学総合研究科 分子細胞機能学分野)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 050

自然免疫分子 STING の恒常活性化体の機能は野生型とのヘテロ複合体形成により抑制される

* 進藤 瑠璃 (東北大学大学院 生命科学研究科), 朽津 芳彦 (東北大学大学院 生命科学研究科), 向井 康治朗 (東北大学大学院 生命科学研究科), 田口 友彦 (東北大学大学院 生命科学研究科)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 051

ATG-18 の非オートファジー機能を介した寿命制御機構の解明

* 高橋 一徹 (大阪大学 大学院 生命機能研究科 細胞内膜動態研究室), 塩田 達也 (大阪大学 大学院 生命機能研究科 細胞内膜動態研究室), 吉川 治孝 (徳島大学 先端酵素学研究所), 小迫 英尊 (徳島大学 先端酵素学研究所), 吉森 保 (大阪大学 大学院 生命機能研究科 細胞内膜動態研究室 | 大阪大学 大学院 医学系研究科), 中村 修平 (大阪大学 大学院 生命機能研究科 細胞内膜動態研究室 | 大阪大学 大学院 医学系研究科 | 大阪大学 高等共創研究院)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 052

Ykt6 のダブルプレニル化はオートファジー・リソソーム系の維持に重要である

* 立石正規 (東北大学加齢医学研究所 基礎加齢研究分野), 後藤孝太 (東北大学加齢医学研究所 基礎加齢研究分野), 堀内久徳 (東北大学加齢医学研究所 基礎加齢研究分野), 白川龍太郎 (東北大学加齢医学研究所 基礎加齢研究分野)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 053

The analysis of the CD63 dynamics and release from the cells by using the lattice light sheet microscopy

* Hani Sapili (Laboratory of Molecular Medicine and Cell Biology, Division of Biological Science, Nara Institute of Science and Technology), Tamako Nishimura (Laboratory of Molecular Medicine and Cell Biology, Division of Biological Science, Nara Institute of Science and Technology), Eiji Morita (Faculty of Agricultural and Life Science, Hirosaki University), Yuko Mimori-Kiyosie (Laboratory for Molecular and Cellular Dynamics, RIKEN Center for Biosystems Dynamics Research), Shiro Suetsugu (Laboratory of Molecular Medicine and Cell Biology, Division of Biological Science, Nara Institute of Science and Technology)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 054

動物細胞の TGN における膜交通のライブイメージング解析

* 松浦 公美 (理化学研究所), 山本 航 (理化学研究所), 戸島 拓郎 (理化学研究所), 中野 明彦 (理化学研究所)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 055

動物の初期胚発生に向けたリソソーム分解系による細胞内膜系リモデリング機構

* 佐藤 健 (群馬大学生体調節研究所), 川崎 一郎 (群馬大学生体調節研究所), 杉浦 健太 (群馬大学生体調節研究所), 佐々木 妙子 (群馬大学生体調節研究所), 佐藤 美由紀 (群馬大学生体調節研究所)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 056

Prohibitins restrain OMA1-DELE1-mediated ISR and modulate cellular viability under ferroptosis

* Mashun Onishi (Max Planck Institute for Biology of Ageing), Takashi Tatsuta (Max Planck Institute for Biology of Ageing), Hendrik Nolte (Max Planck Institute for Biology of Ageing), Maximilian Schuetter (Max Planck Institute for Biology of Ageing), Patrick Gialvalisco (Max Planck Institute for Biology of Ageing), Thomas Langer (Max Planck Institute for Biology of Ageing)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 057

自然免疫分子 STING のオルガネラ間移行を駆動する小胞体 - ゴルジ体コンタクトサイト形成因子の同定

* 茂谷 康 (徳島大先端酵素学研), 田良島 典子 (徳島大院薬), 西野 耕平 (徳島大先端酵素学研), 山内 駿弥 (徳島大院薬), 南川 典昭 (徳島大院薬), 小迫 英尊 (徳島大先端酵素学研)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 058

The I-BAR protein-dependent extracellular vesicles as a possible carrier of amyloid beta

* Lee Shin Yong (Division of Biological Science, Nara Institute of Science of Technology), Takehiro Inaba (Division of Biological Science, Nara Institute of Science of Technology | Division of Advanced Research Promotion, Institute of Comprehensive Medical Research, Aichi Medical University), Tamako Nishimura (Division of Biological Science, Nara Institute of Science of Technology), Shiro Suetsugu (Division of Biological Science, Nara Institute of Science of Technology)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 059

磁性ナノ粒子を用いたオルガネラ膜損傷の研究

* BOLDBAATAR BAYARKHUU (岩手大学大学院 総合科学研究科 理工学専攻 生命科学コース), 西館 直樹 (岩手大学大学院 総合科学研究科 理工学専攻 材料科学コース), 西條 未来 (岩手大学大学院 総合科学研究科 理工学専攻 物質科学コース), 米川 悠太 (岩手大学大学院 総合科学研究科 理工学専攻 生命科学コース), 及川 歩起 (岩手大学大学院 総合科学研究科 理工学専攻 材料科学コース), 大柳 洗一 (岩手大学大学院 総合科学研究科 理工学専攻 材料科学コース), 小林 悟 (岩手大学大学院 総合科学研究科 理工学専攻 材料科学コース), 芝崎 祐二 (岩手大学大学院 総合科学研究科 理工学専攻 物質科学コース), 芝 陽子 (岩手大学大学院 総合科学研究科 理工学専攻 生命科学コース)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 060

ArfGAP ファミリー、SMAP1 の Weibel Palade Body 分解の阻害機構の解析

* 八重樫 大 (岩手大学大学院 総合科学研究科 理工学専攻 生命科学コース), 篠山 壮佑 (岩手大学大学院 総合科学研究科 理工学専攻 生命科学コース), 齊藤 奈菜 (岩手大学大学院 総合科学研究科 理工学専攻 生命科学コース), 芝 陽子 (岩手大学大学院 総合科学研究科 理工学専攻 生命科学コース)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 061

配偶子形成時におけるセプチン細胞骨格近傍への翻訳制御因子の局在

* 田口 将大 (筑波大 分子細胞生物学 | 筑波大 ヒューマニクス), 入江 賢児 (筑波大 分子細胞生物学), 須田 恭之 (筑波大 分子細胞生物学 | 理研・光量子工学・生細胞超解像イメージング)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 062

選択的オートファジーにおける小胞体繫留因子の機能解析

* 田邊春樹 (大阪大学大学院生命機能研究科), 東桃子 (大阪大学大学院生命機能研究科), 志摩喬之 (大阪大学大学院医学系研究科), 小迫英尊 (徳島大学 先端酵素学研究所), 久万亜紀子 (大阪大学大学院医学系研究科), 吉森保 (大阪大学大学院生命機能研究科 | 大阪大学大学院医学系研究科)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 063

近交系マウスにおける mtDNA 変異とその機能解析

* 佐藤 沙菜 (大阪大学)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 064

F-Actin-dependent deformation of primary cilia and pericentriolar matrix and release of selective primary cilia proteins into media by hyperosmotic shock

* Hiroshi Otani (Anatomy & Developmental Biology, Graduate School of Biomedical & Health Sciences, Hiroshima University)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 065

Autophagy adaptors form sheet-like condensates on mitochondria during Parkin-mediated mitophagy

* YangZi (Department of Biochemistry and Molecular Biology Graduate School and Faculty of Medicine The University of Tokyo)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 066

ゴルジ体ストレス応答コレステロール経路による細胞死誘導機構の解析

* 都出茉莉花 (兵庫県立大学 理学研究科 生命科学専攻 生体物質化学Ⅱ分野), 若林貞夫 (兵庫県立大学 理学研究科 生命科学専攻 生体物質化学Ⅱ分野), 桜井香里 (兵庫県立大学 理学研究科 生命科学専攻 生体物質化学Ⅱ分野), 山地俊之 (厚生労働省 国立感染症研究所 細胞化学部), 櫻井香里 (東京農工大学 工学研究院 生命機能科学部門), 佐々木桂奈江 (兵庫県立大学 理学研究科 生命科学専攻 生体物質化学Ⅱ分野), 花田賢太郎 (厚生労働省 国立感染症研究所 品質保証・管理部), 養王田正文 (東京農工大学 工学研究院 生命機能科学部門), 吉田秀郎 (兵庫県立大学 理学研究科 生命科学専攻 生体物質化学Ⅱ分野)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 067

細胞外小胞マーカー、CD63 の輸送に関与する ArfGAP の機能解析

* 鈴木 花純 (岩手大学 総合科学研究科 理工学専攻 生命科学コース 細胞内輸送研究室), 大川 義敬 (岩手大学 総合科学研究科 理工学専攻 生命科学コース 細胞内輸送研究室), 前田 昂樹 (弘前大学 農学生命科学部 分子生命科学科), 和栗 聡 (福島県立医科大学 医学部 解剖・組織学講座), 森田 英嗣 (弘前大学 農学生命科学部 分子生命科学科), 芝 陽子 (岩手大学 総合科学研究科 理工学専攻 生命科学コース 細胞内輸送研究室)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 068

Reticulon2B/Spg12-Spastin/Spg4 の相互作用機序の解析

* 鶴若祐太 (名古屋大学大学院医学系研究科), 野澤彰 (愛媛大学 プロテオサイエンスセンター 無細胞生命科学部門), 澤崎達也 (愛媛大学 プロテオサイエンスセンター 無細胞生命科学部門), 亀高論 (名古屋大学大学院医学系研究科)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 069

低分子量 G タンパク質 ARL15 のパルミトイル化修飾と膜局在化に関する解析

* 芦 優輝 (明治薬科大学・生化学), 茅野 剛史 (明治薬科大学・生化学), 荒木 信 (明治薬科大学・生化学), 紺谷 園二 (明治薬科大学・生化学)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 070

Single cell RNA-Seq 解析による円錐角膜患者の発現変動遺伝子に基づく治療薬候補の探索

* 今井 康太 (同志社大学大学院 生命医科学研究科), 奥村 直毅 (同志社大学大学院 生命医科学研究科), 中川 達也 (同志社大学大学院 生命医科学研究科), 小泉 範子 (同志社大学大学院 生命医科学研究科)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 071

三次元人工モルフォゲンモデルによる細胞自律的なパターン構築原理の解明

* 水野 皓介 (金沢大学新学術創成研究科 | ナノ生命科学研究所), 戸田 聡 (ナノ生命科学研究所)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 072

エクソソーム模倣小胞 MNV の膜タンパク質組成とそのドラッグデリバリーへの応用

* 川口万太郎 (東京工業大学・生命理工学院生命理工学系 | 東京大学・先端科学技術研究センター), 星野歩子 (東京大学・先端科学技術研究センター)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 073

機能性有機ナノシリカ粒子を用いたマルチモダルイメージングの試み

* 春田 知洋 (日本電子株式会社), 中村 教泰 (山口大学大学院医学研究科)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 074

ゼノフリー条件における外毛根鞘由来上皮系細胞からの hiPSC 作製

* 久下 貴之 (ポーラ化成工業株式会社), 岩永 知幸 (ポーラ化成工業株式会社)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 075

サブミクロン赤外分光分析を用いた細胞への応用

* 小林華栄 (株式会社日本サーマル・コンサルティング), 清水夕美子 (株式会社日本サーマル・コンサルティング)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 076

近赤外蛍光タンパク質 (iRFP) を用いた細胞周期を可視化するバイオセンサーの開発

* 西坂 有紗 (京都大学大学院生命科学研究所 生体制御学), 待永 明仁 (エーザイ株式会社筑波研究所 OBG メディスンクリエーション筑波研究所), 垣内 伸之 (京都大学大学院医学研究科 腫瘍生物学 | 京都大学高等研究院 ヒト生物学高等研究拠点), 小川 誠司 (京都大学大学院医学研究科 腫瘍生物学 | 京都大学高等研究院 ヒト生物学高等研究拠点 | Department of Medicine Center for Hematology and Regenerative Medicine Karolinska Institute Sweden), 妹尾 浩 (京都大学大学院医学研究科 消化器内科学), 東山 繁樹 (大阪国際がんセンター研究所 腫瘍増殖制御学部), 松田 道行 (京都大学大学院生命科学研究所 生体制御学 | 京都大学大学院医学研究科 病態生物医学), 平塚 徹 (大阪国際がんセンター研究所 腫瘍増殖制御学部)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 077

マイクロウェルを用いたシングルセルイメージングによる急性骨髄性白血病細胞の薬剤応答解析

* 新倉 竜太 (東京大学大学院 薬学系研究科 生理化学教室), 山本 昌平 (東京大学大学院 薬学系研究科 生理化学教室), 藪下 知宏 (東京大学薬学部分子腫瘍薬学社会連携講座), 鈴木 宏明 (中央大学 理工学部 精密機械工学科), 合山 進 (東京大学大学院 新領域創成科学研究科 メディカル情報生命専攻 先進分子腫瘍学分野), 北村 俊雄 (東京大学薬学部分子腫瘍薬学社会連携講座), 知念 拓実 (東京大学大学院 薬学系研究科 生理化学教室), 北川 大樹 (東京大学大学院 薬学系研究科 生理化学教室)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 078

Split 蛍光タンパク質を用いた多重蛍光ラベル技術

* 石井 衛 (京都大学大学院 生命科学研究所 生体制御学分野), 金城 智章 (ノースカロライナ大学チャペルヒル校 生化学・生物物理学部), 寺井 健太 (京都大学大学院 医学研究科 病態生物医学), 松田 道行 (京都大学大学院 生命科学研究所 生体制御学分野 | 京都大学大学院 医学研究科 病態生物医学)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 079

膨張顕微鏡法による一次繊毛の超解像イメージング：ProExM と U-ExM の比較および抗体適用性の評価

* 加藤 洋平 (京都大学大学院薬学研究科生体情報制御学分野), 里田 裕紀 (京都大学大学院薬学研究科生体情報制御学分野), 田崎 晃司 (京都大学大学院薬学研究科生体情報制御学分野), 千葉 秀平 (東北大学大学院生命科学研究所分子細胞生物分野), 中山 和久 (京都大学大学院薬学研究科生体情報制御学分野)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 080

Opto-Droplet による細胞機能操作法の開発

* 後藤 祐平 (基礎生物学研究所 定量生物学研究部門 | 生命創成探究センター 定量生物学研究グループ | 総合研究大学院大学 生命科学専攻科 基礎生物学専攻), 青木 一洋 (基礎生物学研究所 定量生物学研究部門 | 生命創成探究センター 定量生物学研究グループ | 総合研究大学院大学 生命科学専攻科 基礎生物学専攻)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 081

反応漏れの無い光・化合物遺伝学的タンパク質制御技術の開発

* 河野 風雲 (東京大学 大学院総合文化研究科), 佐藤 守俊 (東京大学 大学院総合文化研究科)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 082

A customizable RNA-binding protein for live-imaging and manipulation of the dynamics of endogenous RNAs

* 高井 啓 (東大院・医・細胞生物 | 理研 BDR・細胞極性統御), 岡田 康志 (東大院・医・細胞生物 | 理研 BDR・細胞極性統御 | 東大院・理・物理)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 083

細胞極性形成計測のための多焦点 FCS 法の開発

* 毛利 一成 (国立研究開発法人 情報通信研究機構), 松田 厚志 (国立研究開発法人 情報通信研究機構)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 084

核内輸送因子 Importin α の熱安定性と核-細胞質間輸送機構の環境応答性

* 小川 泰 (理化学研究所 今本細胞核機能研究室), 今本 尚子 (理化学研究所 今本細胞核機能研究室)

16:00-17:30

P - D2 - P001 - 085

細胞内多重局在タンパク質 Hfd1 の細胞内局在における C 末端疎水性領域の役割

* 小西 雄大 (京都産業大学大学院 生命科学研究所), 阪上 春花 (京都産業大学 生命科学部), 竹田 弘法 (奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術), 遠藤 斗志也 (京都産業大学 生命科学部)

16:00-17:30

核移行因子 importin α 5/KPNA1 は神経細胞において核小体の形態の制御に関与する

* 久富 理 (福井大学 医学系部門 分子生体情報学), 水野 克俊 (福井大学 医学系部門 分子生体情報学), 宮本 洋一 (医薬基盤・健康・栄養研究所 細胞核輸送ダイナミクスプロジェクト), 岡 正啓 (医薬基盤・健康・栄養研究所 細胞核輸送ダイナミクスプロジェクト), 山田 雅己 (福井大学 医学系部門 分子生体情報学)

キーワード: 核移行因子, 核小体, importin, 神経細胞, イメージング

核移行因子は、核で働くタンパク質を細胞質から核内へと輸送する。この因子のひとつ importin α は、タンパク質を核内に輸送したあと、核内において核外輸送因子である CAS/CSE1L と、核輸送制御因子である Ran-GTP との三者複合体を形成して、細胞質へと輸送され、再びタンパク質の核内輸送に働くことが知られている。しかし、核内における importin α の詳細な局在や機能については不明な点が多い。これを明らかにするため、我々は importin α ファミリーの中で脳内において最も発現量が高く、神経細胞への分化に関与すると考えられている importin α 5/KPNA1 (KPNA1) に着目し、KPNA1 の核内の状態や機能について解析した。

まず、マウス脳に対して免疫染色を行ったところ、大脳皮質の神経細胞において、KPNA1 は核小体の構成分子、nucleophosmin (NPM1) と fibrillarin (FBL) と共局在した。次に、KPNA1 と NPM1 にそれぞれ蛍光タンパク質を融合させ、これらを NIH3T3 細胞株に強制発現させたところ、上記の結果と同様に、KPNA1 は NPM1 と同じ核小体に局在した。さらに我々は、KPNA1 の欠損が、核小体の形態や機能に影響を及ぼすか否かを検証するため、KPNA1 ノックアウトマウス (KPNA1-KO マウス) の脳に対する核小体の構成分子の免疫染色を行った。その結果、KPNA1-KO マウスの脳神経細胞において、NPM1 と FBL が一部核外に局在したこと、さらに前頭部の神経細胞において、これら 2 分子が核内に局在する面積が野生型マウスに比べ有意に増大したことが明らかになった。

以上の研究結果によって、KPNA1 が核小体に局在することと、KPNA1 が核小体の形態の制御に関与する可能性が示唆された。

ミトコンドリア -ER 間における ATPase を介した膜タンパク質の再配送機構

* 小野 鈴花 (京都産業大学 生命科学部 | 京都産業大学 タンパク質動態研究所), 松本 俊介 (九州大学大学院 農学研究院), 遠藤 斗志也 (京都産業大学 生命科学部 | 京都産業大学 タンパク質動態研究所)

キーワード: ミトコンドリア, 小胞体, タンパク質輸送, プロテオスタシス, オルガネラコミュニケーション

近年、プロテオスタシスを維持する新たなシステムとして、一度オルガネラに局在した膜タンパク質を ATPase が膜から引き抜くことで再び配送する「膜タンパク質の再配送機構」が注目されている。これまでの解析から、ミトコンドリア外膜に存在する AAA-ATPase Msp1 はミトコンドリアに誤局在した TA タンパク質を膜から引き抜いた後に ER へと再配送することで、誤局在タンパク質を取り除くことが明らかとなった。一方、ER 膜に存在する P-ATPase Spf1 も Msp1 と同様に TA タンパク質の引き抜き活性を有し、Spf1 の欠損は本来ミトコンドリアに局在すべき TA タンパク質の ER 誤局在を引き起こすことが報告されている。したがって、ER においてもミトコンドリアと同様に ATPase を介した膜タンパク質の引き抜きによる「膜タンパク質の再配送機構」が存在する可能性が示唆される。しかし、Spf1 の欠損は TA タンパク質の ER 誤局在だけでなく、脂質恒常性の破綻や ER ストレスを引き起こすことが報告されており、Spf1 の分子機能および Spf1 が制御する「膜タンパク質の再配送機構」の全容については未だ不明である。

本研究では、Spf1 がミトコンドリア -ER 間において制御する「膜タンパク質の再配送機構」について検証するため、Spf1 欠損型出芽酵母を用いた細胞内局在解析を行った。その結果、Spf1 の欠損による膜タンパク質の ER 誤局在は、脂質恒常性および ER ストレス非依存的に生じることが明らかとなった。さらに、Spf1 は ER に誤局在した膜タンパク質を本来の局在場所であるミトコンドリアへと再配送することが確認された。したがって、Spf1 は ER に誤局在した膜タンパク質を引き抜き、本来の局在場所であるミトコンドリアへと再配送することで、細胞内における膜タンパク質の正しいオルガネラ局在を制御することが考えられる。

VAMP5 は SNAP23 の構造を変化させることでファゴソーム成熟に間接的に機能する

* 櫻井 千恵 (鳥取大・医・生命科学・分子生物), 河野 信 (鳥取大・医・生命科学・分子生物), 初沢 清隆 (鳥取大・医・生命科学・分子生物)

キーワード: phagocytosis, phagosome, SNARE protein, FRET, macrophage

生体内に侵入した病原微生物などの異物は、マクロファージなどの食細胞により貪食・殺菌・分解される。この一連の反応をファゴサイトーシスという。貪食により形成された小胞 (ファゴソーム) は、成熟することで異物を処理する。これは細胞小器官との融合を繰り返して進行するため、SNARE タンパクによる膜融合が必須である。

私たちはこれまで、細胞膜局在 SNARE タンパク SNAP23 がファゴソームの形成と成熟に機能することを報告した。この過程で新たに VAMP5 (細胞膜局在 SNARE タンパク) が関与する知見を得た。VAMP5 の機能は未解明であったため、本研究はファゴサイトーシスにおける VAMP5 の機能解明を目的とした。

はじめに、マクロファージを用いて VAMP5 の過剰発現や発現抑制がファゴサイトーシスに与える影響を調べた。その結果、VAMP5 はファゴソーム形成を促進することがわかった。また VAMP5 の動態を観察したところ、一過的にファゴソームに局在するものの速やかに遊離する現象が見られ、この遊離はクラスリンの阻害により抑制された。このとき、ファゴソーム成熟は遅延していた。そこでファゴソーム上の SNAP23 に及ぼす VAMP5 の影響について、SNAP23 の一分子 FRET プローブを用いて検証した。このプローブは SNAP23 が closed form を形成するとシグナルの上昇が見られる。その結果、VAMP5 のファゴソーム遊離を抑制した場合に顕著なシグナルの上昇が確認でき、ファゴソームに留まった VAMP5 が SNAP23 の closed form 状態を維持させていることがわかった。

以上から、ファゴソーム形成に促進的に機能した VAMP5 はクラスリン依存的にファゴソームから遊離することで SNAP23 の open form 形成を促し、これにより SNAP23 はファゴソーム成熟に機能可能な構造をとると考えられた。

微小管架橋因子 MTCL2 によってゴルジ近傍に形成される微小管ネットワークは初期小胞輸送を負に制御する

* 藤野 慈乃 (横浜市立大学大学院 生命医科学研究科 分子細胞医科学研究室), 鈴木 厚 (横浜市立大学大学院 生命医科学研究科 分子細胞医科学研究室)

キーワード: 小胞輸送, 微小管, 小胞体, ゴルジ体, ERGIC

MTCL2 は、中央のコイルドコイル領域で会合し、N 末端領域でゴルジ体に、C 末端領域で微小管に結合することで、ゴルジ体膜上で微小管を架橋する新しいタイプの微小管制御因子である。MTCL2 を欠失した細胞ではゴルジ体近傍への微小管の集積の低下が起り、それに伴い、ゴルジ体の核片側への集積の緩み、細胞の運動極性の乱れが観察される。こうした結果は、MTCL2 による小胞輸送制御の可能性を示唆しているが、小胞輸送を直接観察し、この可能性を検証する研究はこれまでまだ進められていなかった。

本研究では、ピオチン添加によって小胞体からの輸送を開始することができる Rush システムを利用してゴルジ体酵素・マンノシダーゼ II の小胞体-ゴルジ体間輸送を観察した。その結果、Rush システム安定発現 HeLa-K 細胞において MTCL2 をノックダウンすると、マンノシダーゼ II -GFP のゴルジ体への輸送が顕著に早まる様子が観察された。野生型 HeLa-K 細胞において MTCL2 ノックダウンした場合にも、細胞辺縁部の ERGIC が低下しゴルジ体付近に集積することから、MTCL2 欠損細胞では初期小胞輸送一般が促進されていることが示唆された。膜透過性の微小管標識色素 Sir-tubulin を用いて、マンノシダーゼ II 小胞の輸送と微小管の配向の関係を生細胞内でライブイメージング解析した結果からは、ゴルジ体付近の微小管の密度が高く集積している領域でマンノシダーゼ II 小胞がトラップされ、小胞輸送が阻害されている様子が観察された。すでに膵臓 β 細胞内に密に形成されている微小管ネットワークがインシュリンの細胞表層への輸送を阻害していることが報告されている。本研究の結果は、MTCL2 によってゴルジ体近傍に集積させられている密な微小管ネットワークが、小胞体 - ゴルジ体間の初期小胞輸送の負の制御に働いている可能性を新たに示唆するものである。

ショウジョウバエを用いたメバロン酸キナーゼ欠損によるロドプシン輸送阻害と網膜変性症の解析

* 佐々木捷悟 (広島大学総合科学部総合科学科), 佐藤卓至 (広島大学統合生命科学研究所), 佐藤明子 (広島大学統合生命科学研究所)

キーワード: ショウジョウバエ, 網膜変性, メバロン酸キナーゼ, 膜交通, プレニル化

メバロン酸キナーゼ (MVK) 欠損症は MVK 遺伝子の変異により発症する自己炎症性疾患だが、近年、高頻度で網膜変性を伴うことが分かってきた。MVK 欠損症における自己炎症は低分子量 G 蛋白質 Rho のプレニル化欠損により生じるが、網膜変性の原因は明らかでない。また MVK 欠損症では Rab のプレニル化も欠損しているが、病態との関係は不明である。

光受容タンパク質ロドプシンの合成輸送の阻害はヒトとハエで網膜変性の原因となる。我々は、ショウジョウバエ網膜におけるロドプシン 1 (Rh1) の輸送を阻害する変異として MVK 遺伝子の欠損変異を同定していたが、さらに MVK 欠損網膜が年齢依存的に変性することを見出した。そこで、MVK 欠損がロドプシン輸送阻害と網膜変性を引き起こすメカニズムの解明を試みた。

MVK 欠損網膜では多種類の Rab の膜局在が失われ、非プレニル型 Rab が細胞質に蓄積していた。Rab の膜局在の欠損は MVK 欠損の程度に依存したが、Rab11 が最も感受性が高く、Rab11 のみ欠損した視細胞は Rh1 を細胞質に蓄積した。一方、多種類の Rab が欠損した視細胞は Rh1 分解を示した。これらは Rab11, Rab1 欠損特有の表現型であり、MVK 欠損が Rab のプレニル化を欠損することで Rh1 輸送を阻害すると考えられた。

網膜変性には小胞体ストレス応答 (UPR) が伴う。MVK 欠損が UPR を誘導するかを検討した結果、Xbp1 発現、eIF2 α のリン酸化、各種シャペロンの発現増強を確認した。現在、この UPR 誘導が実際に網膜変性を引き起こすのかを検討している。

Rab のプレニル化欠損と網膜変性との関係は Rep1 変異が原因である X 連鎖脈絡膜血症により示唆されてきた。本研究は MVK 欠損症で、Rab プレニル化欠損による Rh1 輸送阻害が UPR を誘導することで網膜変性を引き起こす可能性を初めて示した。

細胞膜ステロール活性化を制御する因子の探索とその制御メカニズムの解析

* 岸本 拓磨 (北海道大学・遺伝子病制御研究所・分子間情報分野), 賈子木 (北海道大学・遺伝子病制御研究所・分子間情報分野), 錢宇恒 (北海道大学・遺伝子病制御研究所・分子間情報分野), 田中 一馬 (北海道大学・遺伝子病制御研究所・分子間情報分野)

キーワード: ステロール, 細胞膜, 脂質輸送, 極性分布, 膜変形

細胞膜はコレステロールなどステロール類を最も多く含む生体膜である。ステロールは細胞膜中に包埋され膜外の物質との接触が制限されるが、ステロール濃度の上昇や周囲の膜脂質環境の変化によりその制限が解除され膜表面に露出する物理状態 (ステロール活性化) を示す事が明らかになりつつある。ステロール分子の露出は、細胞膜でのステロール濃度維持に必要であると推測されるが、その制御機構は未解明である。

我々は、ステロール結合性毒素 Perfringolysin O のステロール結合ドメイン (D4) をベースに、真菌類主要ステロールであるエルゴステロールの活性化状態を可視化する蛍光プローブ (GFPen-D4H) を開発した。出芽酵母の野生株では、GFPen-D4H の分布が極性部位に観察される。この極性分布を指標に出芽酵母遺伝子変異株ライブラリーを用いて関連する遺伝子スクリーニングした。細胞膜および表層小胞体 (cER) に分布するタンパク質をコードする約 400 種類の遺伝子破壊株の中から、GFPen-D4H の分布が変化する 13 種類の遺伝子変異を現在までに選別した。本発表では cER に分布しステロール輸送に関わる Lam タンパク質 (StArT like domain タンパク質) の遺伝子変異について報告する。lam 変異株では野生株での極性分布とは異なり、母細胞の細胞膜に GFPen-D4H が分布することを見出した。また、lam 変異株とは異なる GFPen-D4H 分布を示すリン脂質合成酵素の遺伝子欠損と組み合わせた場合、合成致死性を示すことも見出した。そこで、この条件致死変異株を構築し表現型解析を進めたところ、細胞膜形態の劇的な異常が認められた。以上、細胞膜ステロール活性化制御機構が有する細胞膜構造の維持機能が存在する可能性が示唆された。

繊毛虫テトラヒメナにおける ATG8 の機能解析

* 松田真弥 (筑波大・生命環境 | 筑波大・生命環境・生物), 齊藤知恵子 (東大・院医), 野村真未 (山形大・理), 川原瞳 (筑波大・生命環境・生物), 水島昇 (東大・院医), 中野賢太郎 (筑波大・生命環境 | 筑波大・生命環境・生物)

キーワード: 繊毛虫, *Tetrahymena thermophila*, オートファジー, ATG8, ミトコンドリア

繊毛虫テトラヒメナは、細胞表層の繊毛列に沿って配置した多数の繊毛を使って遊泳運動する。テトラヒメナは口部装置から微生物等を食胞へ取込み、消化吸収して活動エネルギーに転化する。一方、栄養が枯渇すると、異なる接合型の細胞が融合し、有性生殖を行う。飢餓状態のテトラヒメナは、食胞が退縮し、細胞体が細くなり、その遊泳運動速度は上がる。さらに飢餓状態が続くと、繊毛列とその横に並んだミトコンドリアが減少していく。この時、テトラヒメナの精緻な細胞表層構造が、どのような仕組みで秩序を保ちつつ解体されていくかは謎である。オルガネラを分解する機構としてオートファジーが知られている。オートファジーは細胞内の恒常性を維持する分解機構の一つであり、飢餓に応答して誘導される。これまでにテトラヒメナでは、有性生殖時に2つのオートファジー関連因子 (ATG8a/Atg8-65 と ATG8b /Atg8-2) によって不要な核が選択的に分解されることが報告されている (Yao et al., 2012)。しかし、飢餓直後のオートファジーの役割は不明である。そこで我々は、オートファジーを可視化するために、EGFPを融合したこれらの因子を発現する細胞株を作製した。富栄養条件下では、ATG8a と ATG8b はいずれも細胞質全体に局在したが、飢餓直後では小さな顆粒構造を形成した。これらの顆粒構造はミトコンドリアに極めて近い位置に局在し、さらに、カップ構造を形成してミトコンドリアを包み込む様子が観察された。そこで、CLEM (光-電子顕微鏡) 法により ATG8b と共局在するミトコンドリアを精査したところ、オートファゴソーム様の膜に包み込まれ、クリステ構造が壊れた異常な外見をしていた。このことから、テトラヒメナの飢餓時のミトコンドリアの減少には、ATG8a と ATG8b が介在するオートファジーが関与していることが示唆された。

オートファジーによる RNA 分解と修飾ヌクレオシドの細胞外排出経路の解析

* 久保田 満聖 (大阪大学 大学院 生命機能研究科), 魏 范研 (東北大学 加齢医学研究所), 岡本 浩二 (大阪大学 大学院 生命機能研究科)

キーワード: オートファジー, RNA 分解, 修飾ヌクレオシド, メンブレントラフィック

RNA は遺伝子発現を担う重要な生体分子であり、その量と品質は合成と分解の適切なバランスにより保たれている。近年の研究から、RNA はオートファジーによって大規模に分解されることが明らかとなった。オートファジーは細胞内成分を分解する、真核生物間で高度に保存された仕組みである。オートファジーの分解産物のうち、アミノ酸などはその多くが細胞内で再利用されるのに対し、RNA の分解産物の一部は細胞外に排出される。RNA の分解産物の中には、核酸塩基や未修飾のヌクレオシドの他に、修飾されたヌクレオシドが存在する。RNA 修飾は RNA の転写後に特定のヌクレオシド部位に付加され、RNA の機能や構造に重要な役割を果たす。一方、分解産物として生じた遊離の修飾ヌクレオシドは核酸分子などの新規合成に再利用できないため、細胞にとって不要であり、蓄積する前に速やかに細胞外へ排出される必要があると考えられる。しかしながら、実際に修飾ヌクレオシドが細胞外へ排出されているのか、またその詳細な分子機構は不明である。

今回我々は、出芽酵母をモデルに用いて、窒素源飢餓条件下での RNA 分解産物の細胞外排出量を解析したところ、多くの修飾ヌクレオシドがオートファジーに依存して細胞外へ排出されていることを見出した。さらに、修飾ヌクレオシドの細胞外排出に関与する遺伝子を網羅的に同定するため、非必須遺伝子欠損変異体ライブラリーを用いてゲノムワイドスクリーニングを行った。その結果、オートファジー関連遺伝子だけでなく、膜輸送経路やトランスporter関連遺伝子が多数、修飾ヌクレオシドの細胞外排出に関与することが示唆された。本発表では、これまでに得られた知見から考えられるオートファジー依存的 RNA 分解と、修飾ヌクレオシドの細胞外排出の分子機構について議論したい。

16:00-17:30 (2023-06-29 16:00 - 17:30 | ポスター会場)

P - D2 - P001 - 009

HSP70 核移行運搬体分子 Hikeshi が制御する細胞ストレス応答とその役割

* 小瀬 真吾 (理研・開拓研究本部・今本細胞核機能研究室), 渡邊 愛 (理研・開拓研究本部・今本細胞核機能研究室), 今本 尚子 (理研・開拓研究本部・今本細胞核機能研究室)

キーワード: 核-細胞質間輸送, 熱ストレス応答, タンパク質恒常性維持, Hikeshi, HSP70

真核生物において、核-細胞質間分子輸送は、細胞恒常性維持ならびに細胞外環境応答に必須の細胞内プロセスである。核-細胞質間の選択的タンパク質輸送は、一般的に運搬体 Importin β ファミリー分子によって行われるが、熱などの細胞ストレス時には、この輸送活性が低下する。一方、細胞質の分子シャペロン HSP70 は、熱ストレス時には、核に強く集積する。我々は、熱ストレス時に HSP70 を核に輸送する新しい運搬体分子として Hikeshi を同定し、HSP70 が核で機能することが熱ストレス時の細胞生存に重要であることを明らかにした。Hikeshi 遺伝子は真核生物で高度に保存されており、Hikeshi 機能が熱ストレス時以外でも重要であることを示唆する結果が様々な生物種で明らかになってきている。

正常温度下でも、HSP70 のごく一部は核にも存在するが、Hikeshi ノックアウト細胞ではその核局在が阻害される。Hikeshi ノックアウト細胞では、正常温度でも熱ストレス応答のマスター転写因子 HSF1 が少し活性化しており、熱ストレス応答時の活性制御にも障害が見られた。さらに、核でのタンパク質不安定化やポリグルタミンタンパク質発現による細胞毒性が亢進することが判った。これらの現象は核局在化 HSP70 発現によってレスキューされた。詳細な解析がなされてきた HSP70 の細胞質機能と比較すると、核における HSP70 機能とその重要性に関する情報は圧倒的に少ない。今回の解析は、HSP70 の核-細胞質局在が、運搬体分子 Hikeshi によって適切に制御されており、正常時ならびにストレス時における HSP70 の核内機能が、適切な HSF1 転写活性制御やタンパク質恒常性維持に重要であることを示している。今大会では、Hikeshi とその輸送基質である HSP70 の細胞機能制御と生理的意義について議論したい。

16:00-17:30 (2023-06-29 16:00 - 17:30 | ポスター会場)

P - D2 - P001 - 010

Role of quinone on mtDNA dynamics and mitochondrial activity

* PAL SOUMYADIP (大阪大学大学院理学研究科)

キーワード: Mitochondria, mtDNA, Quinones, Mitochondrial Activity

Mitochondria are well-known multifunctional organelles which are famous for producing cellular ATP. Due to a complex evolutionary background, mitochondria possess their own DNA (mtDNA) which is independent of the nuclear genome. These molecules are packed into dynamic complexes termed as mitochondrial nucleoids, which are reported to be essential for maintaining proper mitochondrial activity. However, the underlying mechanism behind their functioning remains unclear. Here, we identified novel factors and which govern the nucleoid structures and especially focused on quinone like metabolites and their interaction with the mitochondrial DNA in mammals. Our work, thus, provides new insights into maintaining normal mitochondrial activity via conserving the proper packaged form of mtDNA.

16:00-17:30 (2023-06-29 16:00 - 17:30 | ポスター会場)

P - D2 - P001 - 011

上皮間葉転換に伴う脂質代謝バランスの変化はコレステロールの過剰蓄積を引き起こす

* 松本 惇志 (九州大学 理学研究院), 猪子 誠人 (愛知医科大学 医学部 | 愛知県がんセンター), 細田 和貴 (愛知県がんセンター), 小島 崇宏 (愛知県がんセンター), 大西 紘二 (愛知医科大学 医学部), 池ノ内 順一 (九州大学 理学研究院)

キーワード: 悪性腫瘍, LC-MS, 極長鎖脂肪酸, 脂質イメージング, ラフト

上皮細胞は細胞極性や細胞接着構造という特徴的な形質を持つ。Snail などの転写因子の働きによりこれらの形質が消失する上皮間葉転換 (EMT) は、動物の胚発生に必須である一方、がん細胞の転移浸潤性獲得にも寄与する。EMT で消失する極性や接着の形成・維持には、スフィンゴ脂質やコレステロール (Chol) など特殊な脂質の存在が重要と考えられている。そこで我々は、上皮細胞と EMT を経た細胞 (EMT 細胞) との違いについて、上記脂質に着目して解析を行った。

Snail の導入により EMT を誘導したマウス乳腺上皮細胞 EpH4 (Eph4-Snail) では、親株の EpH4 に比べてスフィンゴミエリン (SM) の量が減少した。質量分析により SM の脂肪酸組成を解析した結果、Eph4-Snail では C22-24 の極長鎖 SM に相当する分子種が特に減少していた。一方、SM と強く相互作用する Chol は EpH4-Snail でむしろ増加傾向であり、Eph4-Snail は EpH4 に対して高い Chol / SM 比を示した。したがって、EMT 細胞では SM と相互作用していない Chol が過剰に存在することが示唆される。

Chol 結合色素 Filipin により Chol の細胞内局在を可視化したところ、Eph4 では主に形質膜に Chol が局在したのに対し、Eph4-Snail では細胞内の顆粒にも局在した。さらに、Eph4-Snail では EpH4 と比較して発達した脂肪滴が観察された。ヒト食道がん由来の細胞株間を比較しても、Snail 高発現株では低発現株に対して脂肪滴が発達していた。したがって、EMT 細胞では SM と Chol のバランスが崩壊しており、過剰な Chol を脂肪滴に貯蔵していることが示唆された。現在、この Chol 過剰蓄積をターゲットとすることで、EMT 細胞を特異的に抑制する実験を検討している。

16:00-17:30 (2023-06-29 16:00 - 17:30 | ポスター会場)

P - D2 - P001 - 012

F-BAR タンパク質 PACSIN2 の脂肪細胞分化と脂肪滴形成への関与

* 松本 侑也 (奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域 分子医学細胞生物学研究室), 稲葉 岳彦 (奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域 分子医学細胞生物学研究室), 末次 志郎 (奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域 分子医学細胞生物学研究室)

キーワード: カベオラ, 脂肪滴, 脂肪細胞, 細胞分化, BAR

脂肪細胞は生体内において、余剰エネルギーを脂肪の形で蓄積しており、エネルギーの貯蔵や放出に関して重要な役割を果たしている。一方で、脂肪細胞の過剰な肥大化や形成は肥満につながり、生活習慣病の原因になりうる。このことから脂肪細胞への分化を理解することは重要である。しかしながら脂肪細胞への分化機構には未だ不明な点が多い。脂肪細胞の成熟過程では、脂肪の蓄積により細胞内の脂肪滴の巨大化が起こる。一方で、コレステロールが豊富な細胞膜陥入構造であるカベオラと脂肪滴の関連が指摘されている。カベオラの構成タンパク質である Caveolin や Cavin の存在は脂肪滴の形成に不可欠である。カベオラの形成およびエンドサイトーシスに関与するタンパク質として PACSIN2 がある。カベオラ構造の安定化に寄与する EHD2 は脂肪細胞の分化や脂質の取り込みに関与することが報告された。それに対して F-BAR ドメインタンパク質 PACSIN2 はカベオラの形態形成に関与し、さらに EHD2 に結合することも示唆されている。しかし、脂肪滴の形成における PACSIN2 の役割を調べた報告はない。我々は、PACSIN 2 の脂肪滴形成における役割を調べた。まず、マウス線維芽細胞由来 3T3-L1 脂肪細胞分化過程において内在性 PACSIN2 と Caveolin-1 が細胞膜上で共局在した。したがって、PACSIN2 がカベオラに局在することを示唆する。次に脂肪細胞分化における PACSIN2 の意義を確かめるために、PACSIN2 欠損 3T3-L1 細胞を作製した。PACSIN2 の欠損細胞は、野生型細胞と比較して、脂肪滴のサイズが小さく、PACSIN2 が、脂肪細胞分化に関与していることを示唆した。これらの結果は、PACSIN2 が脂肪滴形成を通じて脂肪細胞分化に関与する可能性があることを示唆している。

16:00-17:30 (2023-06-29 16:00 - 17:30 | ポスター会場)

P - D2 - P001 - 013

選択的オートファジーによる p62 液滴分解の新規制御因子の同定

* 高田 周平 (順天堂大学医学部生理学第二講座 | 共同筆頭著者), 船越 智子 (順天堂大学医学部生理学第二講座 | 共同筆頭著者), 森下 英晃 (順天堂大学医学部生理学第二講座), 小松 雅明 (順天堂大学医学部生理学第二講座)

キーワード: オートファジー, p62 液滴, 選択的オートファジー, ユビキチン, 相分離

選択的オートファジーは細胞内の主要な選択的分解機構であり、その代表的な基質として p62 液滴が知られる。p62 液滴は p62 がユビキチン化タンパク質と結合し液-液相分離することで形成されるゲル状の非膜型オルガネラであり、選択的オートファジーによる p62 液滴分解は細胞の恒常性維持に重要な役割を担うことが近年明らかにされつつある。ところが、p62 液滴の分解を制御する分子メカニズムについてはほとんど不明である。そこで本研究では、p62 液滴の分解を制御する新規因子群を同定するため、ユビキチン化関連因子群 (555 種類) を標的とした siRNA ライブラリーを用いたスクリーニング解析を実施した結果、p62 液滴の分解を正に制御する E3 リガーゼの同定に成功した。この E3 リガーゼは p62 液滴に局在し、局在には p62 と結合する NBR1 が必要であった。本 E3 リガーゼを欠損させた細胞では p62 液滴の数や大きさの増大を認めたことから、本 E3 リガーゼは p62 液滴に局在化することで、特定の基質をユビキチン化し、p62 液滴の分解を促進している可能性が示唆された。本 E3 リガーゼの基質を同定するため、最近当研究室で開発した新規精製法で単離した p62 液滴の PTMScan 解析を行った結果、p62 液滴に局在する基質候補を同定できており、現在詳細な解析を進めている。本研究成果は、選択的オートファジーによるプロテオスタシス制御機構の包括的理解につながることを期待される。

16:00-17:30 (2023-06-29 16:00 - 17:30 | ポスター会場)

P - D2 - P001 - 014

核-液胞間コンタクトサイトの新規因子の同定と機能解析

* 藤本慎太郎 (山形大学大学院理工学研究科), 田村康 (山形大学理学部)

キーワード: split-GFP, split-TurboID, オルガネラコンタクトサイト, CsFiND, NVJ

出芽酵母の核-液胞間コンタクトサイト (NVJ: Nucleus-Vacuolar Junctions) は、核膜タンパク質 Nvj1 と液胞膜タンパク質 Vac8 が直接相互作用することで形成される。興味深いことに NVJ は栄養飢餓条件にตอบสนองして劇的に拡大することが知られているが、その生理的意義はよくわかっていない。そこで本研究では、NVJ の生理機能の解明を目的として、栄養環境にตอบสนองして NVJ に集積する新規 NVJ 局在タンパク質の探索を行った。

具体的には、オルガネラコンタクトサイト特異的にタンパク質をビオチン化できる手法「CsFiND: Complementation assay using Fusion of split-GFP and TurboID」(Fujimoto et al., Contact, 2023) を NVJ に適応し、新規 NVJ 因子を探索した。その結果、グルコース飢餓時に NVJ へ集積する新規因子を 3 種類同定することに成功し、Gdn1, 2, 3 (Glucose-dependent NVJ protein 1, 2, 3) と命名した。Gdn1 は NVJ の主要な形成因子である Nvj1 や Vac8 を欠損させると、NVJ に集積せず、核膜全体に拡散した。また、Gdn1 欠損細胞においては Nvj1 や Vac8 は NVJ に集積したが、グルコース飢餓時に NVJ へ集積する HMG-CoA 還元酵素の Hmg1, 2 は NVJ に集積できなくなった。これらの結果、Gdn1 がグルコース飢餓にตอบสนองして Hmg1, 2 を NVJ へリクルートする重要な因子であることが示唆された。今後はさらに Gdn1 の解析を進めることで、栄養飢餓依存的な NVJ 拡大の分子機構や、生理的意義の解明が期待される。

PI (3,5)P₂ 産生酵素による STING のリソソーム内包化制御

* 東海林 紬 (東北大学 生命科学研究科 細胞小器官疾患学分野), 朽津 芳彦 (東北大学 生命科学研究科 細胞小器官疾患学分野), 篠島 あゆみ (東北大学 生命科学研究科 細胞小器官疾患学分野), 向井 康治朗 (東北大学 生命科学研究科 細胞小器官疾患学分野), 田口 友彦 (東北大学 生命科学研究科 細胞小器官疾患学分野)

キーワード: STING, リソソーム, ホスホイノシチド

自然免疫応答シグナルの一つである STING 経路は、細胞質中に露出した二本鎖 DNA に応答し、I 型インターフェロンを誘導するシグナル伝達経路として知られている。定常状態で小胞体に局在する膜貫通タンパク質 STING は、DNA 刺激に伴ってゴルジ体へと移行することで、TBK1 キナーゼの自己リン酸化などを誘導し、下流シグナルを活性化する。ゴルジ体を脱出した後、STING はリサイクリングエンドソームで K63-ユビキチン修飾を受け、最終的に K63 結合型ポリユビキチン鎖修飾を認識する ESCRT 複合体の働きによって、リソソームに直接内包化されて分解を受ける (Kuchitsu et al., Nat Cell Biol 2023)。

本研究では、STING 分解を定量的に評価できる実験系を構築し、STING 分解の新規制御因子を同定することを目的とした。STING に低分子量発光タンパク質 NanoLuc を付加した融合タンパク質 (NanoLuc-STING) を発現する細胞株を樹立した。続いて、キナーゼ阻害剤ライブラリー (約 150 種類) を用いて、STING の分解に関与するキナーゼの同定を試みた。その結果、リソソームに存在する脂質・PI (3,5)P₂ を産生する脂質キナーゼである PIKfyve の阻害剤処理 (YM201636) によって、STING の分解が有意に阻害された。また、YM201636 で処理した細胞では、STING 依存的なシグナルが有意に亢進し、STING はリソソームの外側に蓄積していた。さらに、他の PIKfyve 阻害剤である apilimod で処理した細胞や *Pikfyve* をノックダウンした細胞においても同様な結果が得られた。この結果から、PIKfyve が産生する PI (3,5)P₂ は STING のリソソームへの内包化過程を制御する新規分子であることが示唆された。

Small GTPase Cdc42, WASP, and scaffold proteins for higher-order assembly of the F-BAR domain protein

* Cheong Theng Ho (Nara Institute of Science and Technology), Wan Nurul Izzati Wan Mohamad Noor (Nara Institute of Science and Technology), Nhung Thi Hong Nguyen (Nara Institute of Science and Technology), Min Fey Chek (Nara Institute of Science and Technology), Toshio Hakoshima (Nara Institute of Science and Technology), Takehiko Inaba (Nara Institute of Science and Technology), Kyoko Hanawa-Suetsugu (Doshisha University), Tamako Nishimura (Nara Institute of Science and Technology), Shiro Suetsugu (Nara Institute of Science and Technology)

キーワード: Gas7b, oligomerization, FRET, GUV, BAR proteins

The shape of cell membrane is mediated by the membrane-associated proteins, including the Bin-Amphiphysin-Rvs (BAR) domain superfamily proteins. The BAR domain protein family assembles into the highly ordered oligomers that shape and sense the curvature of the membrane, providing platform for scaffold proteins, including Wiskott-Aldrich syndrome protein (WASP)/N-WASP to interact. However, how the BAR domains oligomerize downstream of the intracellular signaling cascade remains elusive. Growth Arrested Specific 7 (GAS7) is an F-BAR domain protein involved in phagocytosis. We used fluorescence resonance energy transfer (FRET) monitoring to analyze the assembly of GAS7 and the oligomeric GAS7 assembly was regulated by the multivalent interactions among WASP/N-WASP, WISH, and Nck, with the activated small GTPase Cdc42 and a membrane-anchored phagocytic receptor. The FRET analysis showed that the GAS7 assembly on liposomes started within seconds and was further increased by the presence of these proteins. Similarly, the localization of GAS7 on the giant unilamellar vesicles (GUVs) was condensed by the presence of WASP/N-WASP, WISH, Nck, Cdc42, and the membrane-anchored cytoplasmic region of the receptor, which was observed biased localization of GAS7. Importantly, GAS7 proteins exhibited the striations on the supported membranes, indicating that the higher-order assembly was mediated by these proteins as visualized by electron microscopy, and the striation was diminished by the mutations that are found in the Wiskott-Aldrich syndrome. Therefore, this study concluded that Cdc42 and the scaffold proteins that commonly bind to the BAR domain superfamily proteins promoted the highly ordered GAS7 assembly by their multivalent interactions, suggesting the mechanism of the BAR domain oligomerization to shape and sense membrane curvature, a fundamental process of cells.

メラニンを介した角化細胞と色素細胞の相互作用

* 清水萌 (岡山大学工学部化学生命系学科オルガネラシステム工学研究室), 柿丸沙耶 (岡山大学工学部化学生命系学科オルガネラシステム工学研究室), 佐藤あやの (岡山大学工学部化学生命系学科オルガネラシステム工学研究室)

キーワード: メラノソーム, メラニン, 角化細胞, 色素細胞, 移行機構

メラノソームは表皮の色素細胞で作られるメラニン含有小胞であり、メラニンの生成とともに成熟した後、色素細胞から角化細胞へ移行する。角化細胞内に取り込まれたメラノソームは、表皮色の発現に貢献し、また、有害な紫外線から核を保護する役割を果たし、最終的に分解または細胞の新陳代謝に伴い細胞とともに剥がれ落ちる。しかし、メラノソームが角化細胞内で過剰に蓄積することがあり、この状態が色素沈着、いわゆるシミにつながると考えられている。この過剰蓄積に関して、以下のような原因を考えることができる。一つ目は、色素細胞によるメラニンの過剰生成、二つ目は、角化細胞によるメラニンの異常な取り込み、三つ目は、角化細胞内でのメラノソームの分解異常・停滞である。これまでに、一つ目のメラニン生成経路を標的とした剤は上市化されているが [1]、二つ目の生成したメラニンの色素細胞から角化細胞への移行は標的化されていない。これは、現在、メラノソームの色素細胞から角化細胞への移行機構に関して、角化細胞が、1: 色素細胞ごとメラノソームを貪食、2: 色素細胞と直接膜融合、3: 色素細胞によって放出されたメラノソーム含有小胞を貪食、4: 色素細胞のエキソサイトーシスによって放出されたメラニンを貪食することを介した4つのモデルが提唱されているが [2]、それぞれのモデルが排他的なのか、そうでない場合はどのような時にどれがどの程度起きるのかなどが明らかでないことに起因すると考えられる。本研究では、角化細胞株と色素細胞株のモデルを作成し、各移行機構による移行の割合を調査し、蓄積原因の二つ目の寄与を明らかにすることを目指した。また、蓄積原因の三つ目に関して、角化細胞の活性化が、移行したメラニン・メラノソームの分解促進に寄与するという仮説を立て、それを検証した。

[1] PMID:28097901

[2] PMID:33923362

植物における細胞融合因子の同定と解析

* 丸山 大輔 (横浜市立大学 木原生物学研究所), 須崎 大地 (横浜市立大学 木原生物学研究所), 太田 かおる (横浜市立大学 木原生物学研究所), 木下 哲 (横浜市立大学 木原生物学研究所)

キーワード: 細胞融合, 受精, 植物, 細胞膜, ユビキチン

植物細胞は細胞膜を丈夫な細胞壁で覆われていることから、動物とは異なる制御を必要とする細胞現象も多く存在すると考えられる。事前に細胞同士が直接接触することが必要となる細胞融合も、植物独自の仕組みが想定される現象である。われわれは以前、シロイヌナズナの受精過程の観察において、卵細胞の隣にある二つの細胞、助細胞と胚乳が細胞融合することを報告した。助細胞は精細胞を輸送する花粉管を誘引する働きをもつことから、われわれは助細胞胚乳融合と名付けたこの現象が、受精後の花粉管誘引停止の鍵を握る細胞排除機構の1つと考えてきた。助細胞胚乳融合の分子機構の解明と、花粉管誘引停止に対する貢献の検証を目指し、われわれは助細胞胚乳融合を欠損する変異体を分離した。その原因遺伝子を調べると、E3 ユビキチンリガーをコードする *CTL17* であった。mNeonGreen でラベルしたレポーター植物の解析から、*CTL17* は受精後の胚乳で特異的に発現し、サイトゾルや核に局在することがわかった。未受精の胚珠で強制的に *CTL17* を発現させたところ、細胞融合が誘導されることもわかり、*CTL17* が助細胞胚乳融合における主要な調節因子であることが示された。しかし、助細胞胚乳融合が阻害される *ctl17* 変異体では、予想と異なり、正常に花粉管誘引が受精後に停止した。*CTL17* を強制発現させた未受精の胚珠が受精立の低下を示したことを考慮すると、助細胞胚乳融合は花粉管誘引停止ではなく、拒否に失敗した2本目の花粉が放出した精細胞による受精を直接阻害することで多精拒否に寄与する役割をもっているかもしれない。この可能性を検証するため、現在、*ctl17* 変異体における多精率の解析を行っている。

新規ヒト小胞体 - リソソーム間コンタクトサイト局在タンパク質の同定と機能解析

* 田代晋也 (山形大学理学部), 高橋賢司 (山形大学理学部), 尾野雅哉 (国立がん研究センター研究所), 吉丸哲郎 (徳島大学先端酵素学研究所), 片桐豊雅 (徳島大学先端酵素学研究所), 田村康 (山形大学理学部)

キーワード: ER, リソソーム, オルガネラ間コンタクト, ストレス

真核生物の細胞内は核、リソソーム、ERなどの各種膜構造(オルガネラ)によって仕切られている。これまで各オルガネラは独立して機能し、細胞の生命活動を維持していると考えられてきたが、近年の研究により、異なるオルガネラ間でタンパク質を介して表面の膜同士を近接させ物質やシグナルのやりとりをおこなっていることが明らかになってきた。しかしオルガネラ間コンタクト研究はまだ未開拓の分野であり、オルガネラ間コンタクトの生理機能に関しては不明な点が多く残されている。

当研究室では、出芽酵母を用いてオルガネラ間コンタクト周辺タンパク質を網羅的にビオチン化し、同定する実験系 CsFiND (正式名称を書く)を開発している (Fujimoto et al., Contact, 2023)。そこで本研究では、ヒトにおける ER - リソソーム間コンタクトが仲介する生理的役割の解明を目的に、CsFiND を HeLa 細胞に応用した。具体的には、HeLa 細胞のリソソーム膜と小胞体膜上に Split-GFP と split-TurboID を直列に結合した CsFiND タンパク質を発現させた。その結果 CsFiND 由来のドット状の GFP 蛍光シグナルが検出された。この結果は、CsFiND の再構成が ER - リソソーム間コンタクトサイトで起きていることを強く示唆した。そこで、CsFiND 発現 HeLa 細胞にビオチンを添加し、ビオチン化されたタンパク質をストレプトアビジンビーズにより濃縮・精製し、質量分析することで ER - リソソーム間コンタクトに集積するタンパク質を同定した。現在はこれらの中からストレスに応答してリソソーム上の ER と接する界面に凝縮する脂質関連タンパク質に着目し、解析している。

ABCC6 (MRP6) の局在する細胞内管状膜構造の生理的意義

* 永田 紅 (京都大学高等研究院物質 - 細胞統合システム拠点 (iCeMS)), 今村 博臣 (京都大学大学院生命科学研究科), 木岡 紀幸 (京都大学大学院農学研究科), 植田 和光 (京都大学高等研究院物質 - 細胞統合システム拠点 (iCeMS))

キーワード: ABC タンパク質, ABCC6 (MRP6), 管状膜構造, ATP, 弾性線維性仮性黄色腫 (PXE)

ABCC6 (MRP6) は、ABC タンパク質ファミリーに属する膜タンパク質であり、ATP 加水分解依存的に細胞内から細胞外への ATP 排出を促進することが知られている。細胞外へ排出された ATP はシグナル伝達物質としてプリン作動性シグナルに関わる一方で、その分解産物であるピロリン酸は内在性の石灰化阻害剤として生理的に重要である。ABCC6 の機能欠損により、異所性石灰化を特徴とする弾性線維性仮性黄色腫 (PXE) が引き起こされる。

本研究において ABCC6 を HeLa 細胞で発現させたところ、細胞膜、小胞膜、および細胞内の管状膜構造上に局在した。我々は ABCC6 の局在するこの管状膜構造を C6-tubule と名付けた。C6-tubule は細胞膜と連続し、細胞外へ開口した構造であった。ABCC6 変異体を用いた実験から、ABCC6 の ATP 加水分解活性は C6-tubule の形成に必要なことがわかった。ABCC6 は、膜の管状化を誘導する BAR ドメインタンパク質 PACSIN2、tubular recycling endosome マーカーである Rab8 や MICAL-L1 と一部共局在した。C6-tubule はアクチン繊維にそって配置しており、細胞を低張液処理すると C6-tubule は崩壊した。細胞が自らの内部にこのような管状膜構造をもつ生理的意義についてはよくわかっていない。我々は、C6-tubule 内腔 (細胞外に相当) は、排出した ATP 濃度を局所的に高く維持してプリン作動性シグナル伝達を調節する場となっているのではないかと考え、C6-tubule 内腔における ATP の可視化を試みている。

Mitochondrial autophagy is carried out by microautophagy in macrophages.

* Lu Shiou-Ling (大阪大学大学院歯学研究科 口腔科学フロンティアセンター | 大阪大学生命機能研究科 | 大阪大学微研), Chen Siyu (大阪大学大学院歯学研究科 口腔科学フロンティアセンター), Kazuya Noda (大阪大学大学院歯学研究科 口腔科学フロンティアセンター | 大阪大学歯学研究科 口腔治療学教室), Kanako Tokuda (大阪大学生命機能研究科), Hiroko Omori (大阪大学微研), Chao-Yuan Tsai (大阪大学免疫フロンティアセンター), Hitoshi Kikutani (大阪大学免疫フロンティアセンター), Yoh Wada (大阪大学産業科学研究所), Mitsunori Fukuda (東北大学生命科学研究科), Shinya Murakami (大阪大学歯学研究科 口腔治療学教室), Takeshi Noda (大阪大学大学院歯学研究科 口腔科学フロンティアセンター | 大阪大学生命機能研究科)

キーワード: autophagy, microautophagy, mitochondria, mitophagy, Rab

Autophagy is an intracellular degradation process in which the intracellular organelles or invading pathogens are transported into lysosomes. Autophagy includes macroautophagy and microautophagy, and the latter directly takes up substrates by invagination and/or protrusion of lysosome own membranes. In contrast to macroautophagy which has been extensively studied, there is limited literature describing microautophagy. Here we revealed that in macrophages, Rab32-positive lysosome-like organelles incorporate various organelles, including early endosomes and mitochondria. Upon exposure to a mitochondrial damaging reagent, mitochondria were directly engulfed by such Rab32-positive lysosome-like organelle, even in ATG7KO or FIP200KO cells. In contrast, in bone marrow-derived macrophages isolated from the double knockout mice of Rab32 and its paralogue Rab38, this process was defective. Thus, mitochondria-targeted autophagy, mitophagy, could be facilitated by this Rab32/38-related microautophagy pathway in macrophages. We will also discuss whether this microautophagy plays a role in macrophage function, including mitochondria metabolism and M1 polarization, and pathogen clearance of macrophage.

Nuclear transport surveillance of TP53 in glioblastoma

* Dini Kurnia Ikliptikawati (Kanazawa University), Nozomi Hirai (Kanazawa University), Kei Makiyama (Kanazawa University), Hemragul Sabit (Kanazawa University), Masashi Kinoshita (Kanazawa University), Keesiang Lim (Kanazawa University), Makiko Meguro-Horike (Kanazawa University), Shin-ichi Horike (Kanazawa University), Masaharu Hazawa (Kanazawa University), Mitsutoshi Nakada (Kanazawa University), Richard W. Wong (Kanazawa University)

キーワード: glioblastoma, NUP107, TP53, MDM2, proteasome

Nuclear pore complexes (NPCs) are important for nucleocytoplasmic transport and evidence reveals that disease-specific alterations of NPCs contribute to pathogenesis in many cancers. In this study, we found that NUP107, a component of NPCs, shows genomic amplification and overexpression simultaneously with MDM2, a critical E3 ligase for p53 degradation in GBM. Significantly, depletion of NUP107 inhibits the growth of GBM cell lines through the activation of p53. NPCs establish a degradation platform by utilizing an export pathway coupled with 26S proteasome. The loss NPC integrity structure by NUP107 depletion affects the proportion of 26S proteasome in the vicinity of nuclear pores. These results suggest the novel function of NPC as p53 transport surveillance in GBM.

Ykt6 はシス槽からトランス槽への順行性ゴルジ体内輸送を制御する

* 後藤孝太 (東北大学加齢医学研究所基礎加齢研究分野), 立石正規 (東北大学加齢医学研究所基礎加齢研究分野), 堀内久徳 (東北大学加齢医学研究所基礎加齢研究分野), 白川龍太郎 (東北大学加齢医学研究所基礎加齢研究分野)

キーワード: ゴルジ体, 膜輸送, SNARE, プレニル化, ナノボディ

Ykt6 は高度に保存された SNARE タンパク質であり, Syntaxin5, GS28, GS15 とゴルジ SNARE 複合体を形成し, ゴルジ体の組織化に関与する。最近, 我々は Ykt6 を基質とする新規プレニル転移酵素としてゲラニルゲラニル転移酵素 3 型 (GGT3) を同定した。Ykt6 は C 末端に保存された 2 つのシステイン (Cys194 と Cys195) を持ち, Cys195 がファルネシル転移酵素による修飾を受けた後, Cys194 が GGT3 によるゲラニルゲラニル化を受けてダブルプレニル型となる。Ykt6 はダブルプレニル型になっても分子内で閉じた構造をとり, ほとんどが細胞質に不活性な状態で存在する。このことは, 通常プレニル化を受けたタンパク質が脂質二重膜へ局在することと比較して非常に奇妙である。Ykt6 は何らかのメカニズムにより開いた構造になり, 膜移行すると考えられる。我々は, コンフォメーション選択的な抗 Ykt6 ナノボディを複数単離し, シングルプレニル型, ダブルプレニル型それぞれの Ykt6 に対する結合性を評価した。その結果, Ykt6 が開いた構造をとり膜移行するためにはダブルプレニル型になることが必須であり, シングルプレニル型は恒常的に閉じた構造をとり膜移行できないことを見出した。Ykt6 はゴルジ体内輸送を担うことが知られているため, 野生型細胞と GGT3 欠損細胞のゴルジ体内輸送を VSV-G 温度感受性変異体を用いて比較したところ, 小胞体からシス槽への輸送に変化が見られない一方, GGT3 欠損細胞ではシス槽からトランス槽への輸送が顕著に遅延した。また, 電子顕微鏡を用いた観察の結果, GGT3 機能欠損細胞では異常に膨化したゴルジ槽やそれを取り巻く多数の小胞を認めた。この結果は, ダブルプレニル型 Ykt6 を介した脂質二重膜融合が, シス槽 - トランス槽間の順行性ゴルジ体内輸送に重要であることを示唆する。

神経系 MML-1/MXL-2 による組織間コミュニケーションを介した寿命制御機構の解明

* 塩田 達也 (大阪大学大学院 生命機能研究科 細胞内膜動態研究室), 高橋 一徹 (大阪大学大学院 生命機能研究科 細胞内膜動態研究室), 池中 建介 (大阪大学大学院 医学系研究科 神経内科学教室), 神吉 智文 (新潟大学大学院 医歯学総合研究科 機能制御学分野), 岡 敏彦 (立教大学大学院 理学研究科 分子細胞生物学研究室), 望月 秀樹 (大阪大学大学院 医学系研究科 神経内科学教室), Adam Antebi (Max Planck Institute for Biology of Ageing, Molecular Genetics of Ageing), 吉森 保 (大阪大学大学院 生命機能研究科 細胞内膜動態研究室 | 大阪大学大学院 医学系研究科 遺伝学教室 | 大阪大学 先導的学際研究機構 生命医科学融合フロンティア研究部門), 中村 修平 (大阪大学大学院 生命機能研究科 細胞内膜動態研究室 | 大阪大学大学院 医学系研究科 遺伝学教室 | 大阪大学 高等共創研究院)

キーワード: 老化, 線虫, 転写因子, オートファジー, 活性酸素

線虫 *C. elegans* などのモデル生物を用いた解析によって, 生物の老化・寿命は積極的に制御された生命現象の一つであることが分かりつつあり, これまでにインスリン/IGF-1 シグナルや生殖細胞除去など, 進化的に保存された寿命延長経路が複数同定されてきた。我々は以前, これらの経路で共通して必須であり, 寿命延長の鍵分子となりうる因子として転写因子 MML-1/MXL-2 複合体を同定した (Nakamura et al., *Nat Commun*, 2016)。MML-1/MXL-2 は複数の寿命延長経路で活性化され, 細胞内自己分解システムであるオートファジーの活性化を介して生物の寿命延長に寄与している。近年の老化研究では, 特定の臓器や組織が, いわば高次のコントロールセンターとして全身の老化・寿命を制御していることが明らかにされつつある。長寿個体における MML-1/MXL-2 の活性化は全身で起こるが, どの組織の MML-1/MXL-2 の働きが寿命制御に関与しているかは分かっていない。また, MML-1/MXL-2 によるオートファジーの活性化, ならびに寿命の延伸がどのような下流メカニズムを介しているかも不明である。そこで我々は, 線虫を用いた MML-1/MXL-2 の組織特異的な解析を行い, 神経系における MML-1/MXL-2 が全身の老化・寿命を制御していることを見出した。さらに, 組織特異的な MML-1/MXL-2 のトランスクリプトーム解析を実施し, 神経系 MML-1/MXL-2 を起点として non cell autonomous に働く新規の寿命制御シグナルカスケードを同定した。本発表では, これら機能解析の最新の知見を踏まえ, 神経系 MML-1/MXL-2 による組織間コミュニケーションを介した寿命制御機構の詳細を報告したい。

線虫受精卵における ALLO-1 の父性オルガネラ局在化機構の解析

* 法月 拓也 (群馬大学 生体調節研究所), 佐々木 妙子 (群馬大学 生体調節研究所), 櫛田 康晴 (群馬大学 生体調節研究所), 野田 展生 (北海道大学 遺伝子病制御研究所), 佐藤 健 (群馬大学 生体調節研究所), 佐藤 美由紀 (群馬大学 生体調節研究所)

キーワード: オートファジー, 受精, ミトコンドリア, ユビキチン, 線虫

オートファジーは様々な細胞質成分を液胞 / リソソームで分解する機構であり、様々な生命現象に関与することが知られている。我々は 2011 年に線虫 (*Caenorhabditis elegans*) において、受精後の精子由来のミトコンドリアと MO (membranous organelle, 精子特異的オルガネラ) の分解にオートファジーが重要であることを報告し (Sato and Sato, 2011, Science)、その後、ショウジョウバエやマウスにおいても父性ミトコンドリア分解にオートファジーが必要であることが報告された。またその後の我々の線虫を用いた研究によって、基質選択性を規定するオートファジーアダプターとしてはたらく新規因子・ALLO-1 を同定した。卵由来の ALLO-1 は受精直後に父性オルガネラに局在化し、それによってオートファゴソーム形成に必要な因子群が父性オルガネラに集積することが明らかになった (Sato et al., 2018, Nat. Cell Biol.)。しかしながら、ALLO-1 がどのように父性オルガネラに局在化するのかについては未だ不明のままである。そこで現在、我々はユビキチンに着目して、ALLO-1 の局在制御機構の解析を進めている。本発表では最近得られた知見をもとに、ALLO-1 が受精時にどのように父性ミトコンドリアと MO に局在化するのかについて発表する。

オートファジーに必須の Atg1 複合体と Atg2-Atg18 複合体の相互作用の解析

* 安田悠莉 (東工大・生命理工), 人見佳菜恵 (東工大・生命理工), 小谷哲也 (東工大・生命理工), 中戸川 仁 (東工大・生命理工)

キーワード: オートファジー, オートファゴソーム, タンパク質間相互作用, Atg タンパク質, 翻訳後修飾

オートファジーの分解対象は、オートファゴソームと呼ばれる二重膜小胞内に隔離され、液胞あるいはリソソームに輸送され、分解される。オートファゴソームの形成は、約 20 の Atg タンパク質間の相互作用ネットワークの上に成り立っている。今回、私たちは、出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* において、オートファゴソーム形成を開始する Atg1 キナーゼ複合体が、小胞体からの脂質輸送を介してオートファゴソーム膜の伸張に必須の役割を果たす Atg2-Atg18 複合体と相互作用することを新たに発見した。この複合体間相互作用は、オートファジーの誘導に応じて上昇する。この複合体間相互作用には、Atg1 複合体の構成因子である Atg29 と Atg2 が関与しており、Atg29 と Atg2 の相互作用には Atg29 の C 末端領域および Atg1 による Atg29 のリン酸化が重要であることが明らかとなった。先行研究において、Atg29 の中央領域内の S106, S125, S201 が Atg1 によってリン酸化されることが示されていた。これらのセリン残基をアラニンに置換すると、Atg2 と Atg29 の相互作用が顕著に低下し、グルタミン酸に置換すると、オートファジー非誘導条件下でも Atg2 との相互作用が確認された。以上の結果から、オートファジーの誘導に伴って活性化した Atg1 により Atg29 の上記セリン残基がリン酸化されると、その C 末端領域に Atg2 が結合することが示唆された。さらに、Atg29 の C 末端領域欠失体においては、Atg2-Atg18 複合体のオートファゴソーム前駆体への局在化効率が低下することも明らかになった。Atg1 複合体と Atg2-Atg18 複合体の相互作用は、Atg2-Atg18 複合体のオートファゴソーム前駆体への局在化に重要であることが示唆された。

16:00-17:30 (2023-06-29 16:00 - 17:30 | ポスター会場)

P - D2 - P001 - 027

オルガネラ膜損傷を人為的に誘導する光遺伝学ツールの開発

* 長島 悠斗 (東京大学 医学部・大学院医学系研究科 分子生物学教室)

キーワード: LOV2, BAX, 膜損傷

オルガネラ膜の損傷はさまざまな疾患の発症や進行に関連することが知られている。オルガネラ膜の損傷に対する生体応答の解析にはオルガネラ膜を人為的に損傷させるツールが不可欠である。しかし、現時点でオルガネラ膜の損傷を誘導するツールは乏しく、多様なオルガネラを自在に損傷させることは困難である。そこで我々は、アポトーシスの際にサイトゾルからミトコンドリアに集積し膜にポアを形成するタンパク質 BAX を利用して、膜損傷誘導ツールの開発を試みた。

FKBP – FRB タグを利用した二量体化誘導システムを用いて BAX をミトコンドリア膜に接近させたところ、ミトコンドリア膜の損傷が誘導された。しかし、同様の方法で BAX をリソソーム膜や小胞体膜に接近させても膜の損傷は生じなかった。

BAX の C 末端領域には膜貫通ドメインがあり、これがミトコンドリア膜に挿入されることがポア形成に必須である。この時、BAX の膜貫通ドメインをミトコンドリアに恒常的に局在するタンパク質の膜貫通ドメインに置換しても、ミトコンドリア膜の損傷が誘導された。そこで、リソソームや小胞体に局在する膜貫通ドメインに置換したところ、それらのオルガネラ膜の損傷が誘導された。以上から、膜貫通状態の BAX はオルガネラの種類に依らず膜損傷を誘導できると考えられた。

膜貫通状態の BAX の活性を制御するために、BAX の N 末端に光受容ドメインである LOV2 を付加した。LOV2 は青色光照射で立体構造を変化させるドメインで、複数のタンパク質において LOV2 付加により光依存的にタンパク質の活性制御が可能となることが報告されている。LOV2-BAX を各オルガネラ膜上に発現させ青色光を 60 分間照射したところ、ミトコンドリア膜、リソソーム膜、小胞体膜の損傷が誘導された。

以上の結果より、本法を用いて青色光依存的にオルガネラ膜の損傷を誘導できることが示された。

16:00-17:30 (2023-06-29 16:00 - 17:30 | ポスター会場)

P - D2 - P001 - 028

Unraveling selectivity in endoplasmic reticulum autophagy : a search for proteins preferentially degraded via ER-phagy

* Morozova Ekaterina (Tokyo Institute of Technology, School of Life Science and Technology)

キーワード: Autophagy, Endoplasmic reticulum, ER-phagy, *Saccharomyces cerevisiae*, Atg40

Authors : Morozova, Kotani, Niwa, Taguchi, Nakatogawa

Autophagy is a sophisticated degradation route to get rid of intracellular deleterious material, such as malfunctioning organelles, protein aggregates, and pathogens, providing eukaryotic cells with the means for maintaining healthy homeostasis. During autophagy, cargo (material to be degraded) is sequestered within a double membrane vesicle called the autophagosome, which then fuses with a lytic compartment (vacuoles and lysosomes in yeast and mammals, respectively) for cargo degradation. Cargo engulfment within the autophagosome can occur in a selective or non-selective manner. The endoplasmic reticulum (ER) is a membrane-bound organelle constructing a tubular network spreading throughout the cytoplasm and has various roles essential for cells, including the synthesis of proteins, lipids, oligosaccharides, and calcium homeostasis. To maintain these ER functions, elimination of aberrant or superfluous ER components plays a critical role. In addition to the ER-associated degradation system, recent studies have suggested that a selective type of autophagy called ER-phagy also largely contributes to this process. A key player in ER-phagy in *Saccharomyces cerevisiae* is the ER membrane protein Atg40, which was discovered by our research group (Mochida et al., Nature, 2015). Atg40 has a reticulon-homology domain that generates membrane curvature in the ER and mediates the sequestration of ER fragments into autophagosomes (Mochida et al., Nat. Commun., 2020). However, whether Atg40-dependent ER-phagy occurs to degrade specific ER proteins or to degrade random portions of the ER remains unclear. To address this issue, using the APEX2-based proximity labeling strategy and mass spectrometry, we are identifying ER proteins, enriched in Atg40-positive ER fragments, which may include proteins preferentially degraded by ER-phagy. Analyzing those proteins will allow us to understand how Atg40-mediated ER-phagy is involved in the maintenance or regulation of ER functions. In this meeting, we will present and discuss our results obtained to date.

中心小体 de novo 形成機構の解析

* 工 風清 (東京大学大学院薬学系研究科), 畠 星治 (東京大学大学院薬学系研究科), 北川 大樹 (東京大学大学院薬学系研究科)

キーワード: 中心体, 中心小体, オルガネラ

中心小体は複雑な円筒状構造を持つ細胞小器官であり、中心体や繊毛・鞭毛を構成することで、動物細胞内で多様な役割を担う。中心小体を新たに形成する機構として、既存の中心小体の側面から形成する「中心小体複製」と、既存の中心小体に依らない「中心小体 de novo 形成」の二つが知られている。前者の初期過程を司るメカニズムは近年解明されつつある一方で、後者の初期過程はこれまでに捉えられていなかった。そこで本研究では、中心小体 de novo 形成の初期過程を司るメカニズムの解明を試みた。

まず、ヒト培養細胞に対して、中心小体形成に必須のキナーゼ PLK4 の阻害薬を処理して中心小体を除去することで、中心小体 de novo 形成を誘起する実験系を構築した。この系と STED 法を用いた観察から、de novo 形成された中心小体の底部に PLK4 が局在することがわかった。続いて、中心小体形成の初期過程への関与が想定される因子の発現抑制実験を行った。その結果、中心小体複製には CEP152・CEP192 が重要であるのに対して、de novo 形成には CEP152・CEP63 が重要であることがわかり、二つの機構で重要な因子群が異なることが明らかになった。CEP152・CEP63 は PLK4 と同様の局在を示したため、これら二因子が PLK4 とともに de novo 形成の起点となることが示唆された。さらに、de novo 形成された中心小体に近接して存在する、中心小体サテライトという細胞内構造体に着目し、この構造体の形成・維持に必要な因子 PCM1 を発現抑制したところ、de novo 形成の起点の構築が抑制された。

以上より、中心小体 de novo 形成の初期過程に重要な因子群が同定されるとともに、この過程における中心小体サテライトの関与が明らかになった。同定された因子群の役割をより詳細に解析することが今後の課題となる。

Atg39 のリン酸化を介したヌクレオファジーの制御機構

* 富所 暁 (東京工業大学生命理工学院)

キーワード: オートファジー, 出芽酵母, 核, 翻訳後修飾, Atg39

オートファジーは真核生物において広く保存された細胞内分解系である。オートファジーによる分解の対象は、オートファゴソームと呼ばれる二重膜小胞内に隔離され、液胞あるいはリソソームに輸送され、分解される。オートファジーには、細胞質成分をランダムに分解する非選択的オートファジーと、特定のタンパク質やオルガネラを特異的に分解する選択的オートファジーがある。これまでに当研究室は、出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* において、核を標的とした選択的オートファジー、すなわち、ヌクレオファジーを発見し、ヌクレオファジーを誘導する核外膜タンパク質として Atg39 を同定した。Atg39 はアダプター分子 Atg11 を介してコア Atg タンパク質群をリクルートし、核近傍でオートファゴソームの形成を開始する。今回、我々は、Atg39 が Hrr25 (カゼインキナーゼ 1 δ) によってリン酸化されることを発見した。Hrr25 を欠損させると、Atg39 と Atg11 の相互作用が低下し、Atg39 が核膜上で形成するクラスターへの Atg11 の局在化効率が減少し、ヌクレオファジーを介した核タンパク質の分解に欠損が生じた。さらに、質量分析により、Atg39 の Atg11 結合領域に存在する 55、58、59 番目のセリン残基がリン酸化されることが判明した。これらのセリン残基をアラニンに置換した変異体においても、Atg39 と Atg11 の相互作用および共局在率が低下し、ヌクレオファジー活性が減少した。以上の結果から、Atg39 の Atg11 結合領域内のこれらのセリン残基が Hrr25 によってリン酸化されることにより、Atg39 と Atg11 との相互作用の増強を介して、ヌクレオファジーが促進されるというモデルを提唱する。

ゴルジ体 PI4 キナーゼ Pik1p, Frq1p によるポストゴルジ体輸送経路を介したエンドサイトーシス経路の制御

* 栗原 里璃子 (東京理科大学)

キーワード: エンドサイトーシス, ゴルジ体, 小胞輸送, PI, ポストゴルジ輸送

ホスファチジルイノシトール (PI) は脂質二重膜を構成するグリセリン脂質の一種であり、そのリン酸化代謝物は細胞内小胞輸送において重要な役割を果たしている。この中で、PIP2 はエンドサイトーシス過程においてクラスリンアダプタータンパク質の細胞膜への局在化に重要な役割を果たしており、その前駆体である PI4P は、ゴルジ体における小胞輸送のエフェクター分子としても機能することが知られている。以前の研究において、私達はゴルジ体からの小胞輸送がエンドサイトーシス経路の制御において重要であることを明らかにしたが、その詳細な分子機構は不明である。本研究において、私達はゴルジ体の PI4P のエンドサイトーシス経路における必要性を調べるために、ゴルジ体局在の PI4 キナーゼである Pik1p およびその上流因子の Frq1p にランダム変異を導入し、pik1 および frq1 機能欠損変異体を作製した。変異体におけるエンドサイトーシスへの影響を調べたところ、細胞膜におけるクラスリン小胞の形成には異常が見られない一方、エンドソーム - 液胞間の輸送に著しい遅延が見られた。次に、エンドソーム間融合や成熟の鍵因子である酵母 Rab5 への影響について調べた結果、pik1 変異体において部分的な局在異常が認められた。さらに、Rab5 の活性化因子である Vps9p の局在を調べた結果、ゴルジ体への局在の増加が認められた。これらの結果は、Pik1p によるゴルジ体での PI4P の産生がポストゴルジ輸送を介した Rab5 の制御に必要であることを示唆している。さらに、これらの変異体における分泌経路およびリサイクリング経路に与える影響を解析したところ、両方の変異体で分泌経路とリサイクリング経路両方にも異常を示すことが明らかになった。これらの結果は、ゴルジ体における PI4P レベルの調節がゴルジ体を介する輸送全般において重要であることを示唆している。

小胞体ストレス応答の転写因子 XBP1u の翻訳機構の解析

* 小森亮太 (奈良先端科学技術大学院大学 | 兵庫県立大学)

キーワード: 小胞体ストレス応答, XBP1, 翻訳

小胞体ストレス応答 (UPR) を制御する転写因子の一つである XBP1 は、小胞体膜上のセンサー分子 IRE1 α により特殊プライミングを受け活性化される。また、先行研究によって、前駆体型 mRNA である XBP1u mRNA にコードされているタンパク質 XBP1u は、C 末端に疎水性領域 (HR2) と翻訳の一時停止を引き起こす配列 (PS) を持ち、PS で翻訳が一時停止すると HR2 に SRP が結合し、XBP1u が小胞体膜へと運ばれることがわかっている。この機構により、XBP1u mRNA は常に小胞体膜上へと運ばれ、小胞体ストレス時には活性化した IRE1 α により効率よく特殊プライミングを受け転写因子 XBP1s を産生すると考えられる。しかし、XBP1u は SRP 経路により小胞体に輸送されるにも関わらず小胞体へは挿入されず、大部分の XBP1u タンパク質はサイトゾルや核に局在し小胞体ストレス解消時に機能すると考えられている。我々は、XBP1u が何故小胞体に効率よく挿入されないのかについて、その機構と理由について検討した。まず XBP1u に N 型糖鎖付加サイトを導入し小胞体に挿入される効率を調べたところ、15%程度しか小胞体に挿入されることがわかった。その 1 つの理由として、翻訳一時停止を起こすアミノ酸 (M260) と HR2 との距離が長いことが考えられた。すなわち翻訳一時停止を起こした時に HR2 がリボソームトンネルの出口から 12-15 アミノ酸残基離れた所に位置すると考えられるからである。そこでこの領域の欠失変異体を作製し小胞体内への挿入効率を測定した所、15 アミノ酸残基短くした変異体では野生型に比べ効率良く膜内に挿入されることが明らかとなった。現在 Δ 15 変異体を用いて小胞体ストレス応答が野生型とどのように変わるかを調べており、これらの結果を合わせ XBP1u 局在の生理的な意味を考察したい。

Toll 様受容体 4 依存的なファゴサイトーシス反応における VPS33B の機能

* 熊野 公祐 (鳥取大・医・生命科学・分子生物), 高橋 美紀 (鳥取大・医・生命科学・分子生物), 初沢 清隆 (鳥取大・医・生命科学・分子生物)

キーワード: phagocytosis, phagosome, TLR4, VPS33B, macrophage

Toll 様受容体 4 (TLR4) は *E. coli* などグラム陰性菌のリポ多糖をリガンドとするパターン認識受容体であり、炎症性シグナルの発現を促進するほか、食細胞では他の受容体と協働しファゴサイトーシスを引き起こす。細胞内へ取り込まれた TLR4 は、リサイクリングエンドソームを経由し、(1) 再び細胞膜上へ輸送、あるいは、(2) ライソゾームなどへ輸送される場合があるが、その機構はよくわかっていない。近年、(2) において Sec1/Munc-18 タンパク質ファミリーの VPS33B の関与が報告されたが、詳細な分子機構は未解明である。

本研究では、TLR4 の細胞内輸送における VPS33B 機能の解明を目的とし、初めに蛍光タンパク質 mVenus を融合した VPS33B の過剰発現マウスマクロファージ様 J774 (J774/mV-VPS33B) 細胞を樹立した。この細胞に VPS33B siRNA を導入した後、*E. coli* を与え 1 時間と 3 時間後にファゴサイトーシス効率とファゴソーム内部の酸性化効率を検証した。その結果、VPS33B 発現抑制細胞では、コントロールに比べ 3 時間後における両効率に障害が見られた。また、ウエスタンブロット解析の結果、VPS33B 発現抑制細胞では TLR4 の発現量が増加していた。次に、J774/mV-VPS33B 細胞と J774/mVenus 細胞 (コントロール) を用いて同様に *E. coli* のファゴサイトーシス効率を検証した結果、VPS33B の過剰発現の影響は見られなかった。

以上から、VPS33B は内部に取り込まれた TLR4 の分解系への輸送制御に機能することでファゴサイトーシス反応を維持に寄与している可能性とこの VPS33B の機能はこれまでに報告されている VIPAS39 との CHEVI 複合体として発揮される可能性が考えられた。

細胞膜 PIP₂ 反転酵素の探索

* 岡村 優花 (東京薬科大学大学院 ゲノム情報医学研究室, 東京薬科大学大学院 ゲノム病態医学研究室), 栗村 緑 (東京薬科大学大学院 ゲノム病態医学研究室), 高井 えりか (東京薬科大学大学院 ゲノム病態医学研究室), 深見 希代子 (東京薬科大学大学院 ゲノム病態医学研究室), 米田 敦子 (東京薬科大学大学院 ゲノム情報医学研究室, 東京薬科大学大学院 ゲノム病態医学研究室)

キーワード: ホスファチジルイノシトール 4,5- ニリン酸, 細胞膜, 反転酵素

細胞膜ホスファチジルイノシトール 4,5- ニリン酸 (PIP₂) は、細胞の増殖や生存、運動など多くの細胞機能に関与する重要な因子で、細胞膜内葉にのみ存在するとされていた。しかし、最近我々は PIP₂ が細胞膜外葉にも存在し、がん細胞の接着、遊走に働くことを報告した (1)。主に内葉に多いホスファチジルセリンが、アポトーシスを起こした細胞では酵素により外葉に露出することから、PIP₂ も酵素によって外葉に露出することが考えられた。そこで本研究では、外葉 PIP₂ 量に影響する酵素の同定を目的とした。外葉 PIP₂ 量の異なる培養細胞株について、既知のリン脂質反転酵素の遺伝子発現量を定量的 PCR により比較したところ、4 種の候補酵素に絞り込まれた。絞り込まれた候補酵素を外葉 PIP₂ 量の多い細胞株で発現抑制したところ、外葉 PIP₂ 量が減少する酵素 X が見出された。当該酵素を外葉 PIP₂ 量の少ない細胞株数種で過剰発現したところ、1 種の細胞株において外葉 PIP₂ 量が増加した。酵素 X の発現抑制により外葉 PIP₂ 量の完全な消失にはいたらなかったこと、過剰発現も細胞によっては増加が観察されなかったことから、X 以外にも外葉 PIP₂ の増減に関わる因子の存在が考えられた。現在、さらなる制御因子の探索を進めている。

(1) Yoneda A. et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (2020) 527 1050-1056.

16:00-17:30 (2023-06-29 16:00 - 17:30 | ポスター会場)

P - D2 - P001 - 035

ポストゴルジ輸送による出芽酵母 Rab5 ホモログ Vps21p の活性化機構の解明

* 高橋 渚 (東京理科大学先進工学研究科生命システム工学専攻十島研究室)

キーワード: Rab5, FRET, ポストゴルジ, 出芽酵母, エンドサイトーシス

Rab5 は GTP 結合型として機能し、GDP 結合型に変換されて機能を停止する分子スイッチで、この活性化—不活性化制御の破綻が神経変性疾患やがん悪性化の要因となることも報告されているが、この制御機構には不明な点が多く残されている。従来、Rab5 はエンドサイトーシス経路上で活性化されて ES に局在すると考えられてきたが、私たちは近年、出芽酵母を用いた研究において、Rab5 の活性化にはエンドサイトーシス経路は重要ではなく、TGN が必須の役割を担っていることを明らかとした。そこで今回、この TGN 上での Rab5 活性化の分子機構の詳細を明らかとするために、蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) 法を用いた生細胞イメージング解析を試みた。まず、哺乳類細胞での報告を参考にして、出芽酵母の Rab5 ホモログ Vps21p の活性化レベルをモニターするための FRET プローブを作製した。続いて、発現レベルが異なる 2 種類のプロモーターを比較し、さらに自律複製型とゲノム挿入型のプラスミドと比較して、FRET プローブの発現方法の最適化を行った。この FRET プローブを、出芽酵母の Rab5 特異的 GEF である Vps9p の欠損株に発現させ、アクセプター褪色法によって解析した結果、同欠損株では野生株と比較して、FRET 効率の有意な低下が検出された。従って、この FRET プローブを用いることで、生細胞で Vps21p 活性をモニターできることが確認された。続いて、TGN からエンドソームへ輸送を制御するクラスリンアダプターなどの欠損株でも同様に解析した結果、これらの変異株でも Vps21p の活性低下が検出された。さらに、生細胞を用いたアッセイの結果を定量するために *in vitro* でのプルダウンアッセイを行った。その結果、クラスリンアダプターの欠損株で活性型 Vps21p 量の有意な低下が見られた。これらの結果より、クラスリンを介したポストゴルジ体輸送が Rab5 の活性調節に重要であることが示唆された。

16:00-17:30 (2023-06-29 16:00 - 17:30 | ポスター会場)

P - D2 - P001 - 036

ショウジョウバエ SNARE の網羅的機能解析 II—小胞体とゴルジ体間輸送に関わる SNARE

* 多胡 辰哉 (広島大学 大学院統合生命科学研究科)

キーワード: SNARE, ゴルジ体, COP, ゴルジリボン, ショウジョウバエ

小胞体・ゴルジ体間では 2 種類のコートタンパク質 COPI と COPII に被覆された小胞が逆行性と順行性の輸送を行う。本研究では、ショウジョウバエ視細胞において、COPI/COPII 小胞の融合に関与すると報告されているすべての SNARE タンパク質について RNAi によるノックダウンを行い、その表現型を詳細に観察した。COPI/COPII のいずれの SNARE 欠損も細胞膜へと輸送される積荷タンパク質の輸送を阻害したが、膜貫通領域を持つゴルジ体局在酵素については、COPI-SNARE 欠損では、そのゴルジ体局在に大きな影響をもたらさなかった。対照的に COPII-SNARE 欠損では、ゴルジ体局在が完全に消失した。また、電子顕微鏡観察の結果、COPII-SNARE 欠損視細胞では、ゴルジ槽が消失し、代わりに COPII と考えられる小胞の集団が蓄積すること、COPI-SNARE 欠損視細胞では、ゴルジ体がりボン状に集合し、その周囲に COPI 小胞が蓄積することが分かった。これらの結果は、COPII 小胞の融合がゴルジ槽の形成に必要であること、COPI 小胞の融合が、ショウジョウバエ視細胞で観察されるゴルジ体の散在性の維持に寄与することを示している。

16:00-17:30 (2023-06-29 16:00 - 17:30 | ポスター会場)

P - D2 - P001 - 037

ショウジョウバエ SNARE の網羅的機能解析 I—極性輸送に関わる SNARE

* 佐藤 明子 (広島大学 統合生命科学研究科), 越智 優果 (広島大学 統合生命科学研究科), 山下 愛美 (広島大学 統合生命科学研究科), 佐々木 捷梧 (広島大学 統合生命科学研究科), 山田 祐実 (広島大学 統合生命科学研究科), 多胡 辰哉 (広島大学 統合生命科学研究科), 小川 巧 (広島大学 統合生命科学研究科), 佐藤 卓至 (広島大学 統合生命科学研究科)

キーワード: ショウジョウバエ, SNARE, ゴルジ, 極性

多細胞生物の体を構成する細胞の多くは異なる機能を持つ複数の細胞膜ドメインを持つ。このような細胞構造の形成や維持には特異的な膜ドメインへと膜タンパクを輸送するポストゴルジ輸送 (極性輸送) が必要だが、その分子機構はよくわかっていない。ショウジョウバエ網膜は、単一の横断面上で光受容膜・ストーク膜・側底面膜の 3 つの膜ドメインを持つ視細胞を多数観察することができ、極性輸送を研究する上で優れたモデルである。私達の研究グループでは、これまでに光受容膜への輸送には Rab11/dRip11/MyoV 複合体と Rab11 活性化因子 Pcs が必要であること、側底面膜への輸送には Rab10/Ehbp1 と Rab10 活性化因子 Crag が必要であることを報告していたが、これらの過程に機能する SNARE については未同定であった。そこで、ショウジョウバエゲノムのすべての SNARE について、RNAi 法と体細胞 CRISPR-Cas9 法を用いて単一、あるいは複数の SNARE 機能が欠損したクローンを持つモザイク網膜を作成し、その表現型を解析した。その結果、光受容膜と側底面膜への極性輸送に必要な SNARE を同定することに成功したので、その結果を報告する。

線虫 *C. elegans* の受精プロセスにおける卵母細胞膜タンパク質の動態解析

* 杉浦 健太 (群馬大学生体調節研究所), 佐藤 健 (群馬大学生体調節研究所)

キーワード: 受精, 線虫, 卵母細胞, 膜タンパク質, ライブイメージング

受精は有性生殖を行う生物に必須な発生の開始点であり、卵と精子の膜融合を伴う生命現象である。雌雄同体の線虫では、成熟した卵母細胞が貯精嚢を通過する際にただ1つの精子とのみ受精する。受精後には母性膜タンパク質の大規模な分解が生じ、胚性タンパク質へ置き換わる。この際、卵母細胞の細胞膜に精子との細胞膜融合を引き起こす融合因子や、多受精阻止を担う分子が存在し、それらが胚発生の初期に分解されると考えられるが、未だにその全容の解明には至っていない。線虫の卵母細胞は脂質二重層と、その外側の卵黄層で覆われている。これらの層には受精に必須なタンパク質群や、多受精阻止機能を持つタンパク質が局在していると予想される。我々は卵母細胞の表層に局在するタンパク質群を蛍光標識することで、受精時、また受精後における動態を詳細に解析した。蛍光タンパク質を融合した複数の卵母細胞膜タンパク質と、卵黄層タンパク質である CBD-1 について動態解析を行ったところ、精子が接触する領域においてこれらのシグナルが消失し、数十秒後に回復することを見出した。加えて、膜タンパク質ではないが膜近傍に局在する複数のタンパク質についても、同様に精子接触点でのシグナルが消失していた。このシグナルが消失している状態を定量的に比較すると、卵黄層タンパク質 CBD-1 のシグナルが有意に長時間消失しており、さらにいくつかのタンパク質間で消失時間の相関関係が見られた。またこのシグナルの消失は受精が生じない変異体では観察できなかった。また、上記タンパク質群の胚発生期における遷移も捉えることに成功した。特に、受精後15分程度で多くの卵母細胞膜タンパク質が分解される一方で、CBD-1 の蛍光シグナルは時間依存的に増幅することを見出した。本発表では受精過程において展開される卵母細胞タンパク質の動態変化について、その分子機構と生理的意義を議論したい。

ホスホリパーゼ C 様タンパク質の局在及び生理機能解析

* 金丸 佳織 (東京理科大学 創域理工学部), 八代 桃香 (東京理科大学 創域理工学部), 宇佐見 陸 (東京理科大学 創域理工学部), 森田 真帆 (東京理科大学 創域理工学部), 岩田 和子 (東京理科大学 創域理工学部), 佐々木 純子 (東京医科歯科大学 難治疾患研究所), 長谷川 純矢 (東京医科歯科大学 難治疾患研究所), 中村 由和 (東京理科大学 創域理工学部), 佐々木 雄彦 (東京医科歯科大学 難治疾患研究所)

キーワード: 生体膜, イノシトールリン脂質, ホスホリパーゼ C, 免疫蛍光染色, 脂質解析

ホスファチジルイノシトール 4,5- ニリン酸 [PI (4,5)P₂] は、生体膜リン脂質を構成するリン脂質であり、ホスホリパーゼ C (PLC) により加水分解され、ジアシルグリセロールとイノシトール 1,4,5- トリリン酸を産生し、さまざまな細胞応答に関与している。脊椎動物の PLC には、X ドメインと Y ドメインからなる TIM バレルを含む活性部位が存在する。一方、細菌には、X ドメインのみを持つホスファチジルイノシトール特異的 PLC (PI-PLC) が存在し、ホスファチジルイノシトールやグリコシルホスファチジルイノシトールを基質としていることがわかっている。最近、脊椎動物にも、細菌の PI-PLC に類似した構造を持つ PLC 様タンパク質が存在することが報告された。しかしながら、この PLC 様タンパク質は活性を含め、機能については明らかになっていない。そこで、本研究では、PLC 様タンパク質の活性検討及びその機能を解析することを目的とした。

FLAG タグおよび V5 タグを付加した PLC 様タンパク質と PLC 様タンパク質の予想酵素活性中心変異体を発現させた細胞を用いて、細胞内局在の検討を行った。さらに、過剰発現時の細胞内イノシトールリン脂質量の測定を行い、一部のイノシトールリン脂質量に酵素活性依存的な変化が見られることが明らかとなった。今後、PLC 様タンパク質の生理機能についてより詳細な解析を進める予定である。

16:00-17:30 (2023-06-29 16:00 - 17:30 | ポスター会場)

P - D2 - P001 - 040

微小管結合タンパク質 CAMSAP2 はゴルジ体由来の小胞を増加させることでミトコンドリア分裂を促進する

* 新井理究 (早稲田大学・先進理工・生命医科学), 戸谷美夏 (早稲田大学・国際理工学・Bioscience), 佐藤政充 (早稲田大学・先進理工・生命医科学 | 早稲田大学・構造生物・創薬研)

キーワード: ミトコンドリア, 微小管, ゴルジ体, CAMSAP タンパク質

ミトコンドリアは細胞内で分裂と融合をおこなうことで適切な機能を発揮する。また、ミトコンドリアは微小管に沿ってネットワーク状の形態をとる。微小管脱重合剤の添加によってミトコンドリアの形態が大きく変化することから、微小管はミトコンドリアの分裂や融合を介した形態制御に重要な役割を持つと考えられる。しかしながら、微小管がミトコンドリアの分裂と融合に寄与するメカニズムは、未だ多くのことが明らかになっていない。我々は、微小管のマイナス端結合タンパク質 CAMSAP3 の変異マウスにおいて、小腸や腎臓の上皮細胞内に、微小管配向の乱れにともなうミトコンドリアの形態異常を見出した。今回、CAMSAP タンパク質によって配向される微小管が、ミトコンドリアの形態を制御する分子機構を明らかにするために、培養細胞を用いた解析を行った。哺乳類細胞において、CAMSAP2 と CAMSAP3 は機能が重複している。ヒト網膜色素上皮細胞由来の RPE-1 細胞は、CAMSAP2 を発現し、CAMSAP3 を発現しない。CAMSAP2 をノックアウト (KO) すると、ゴルジ体を起点とする微小管が減少することが知られるが、これに加えて、分裂の異常を示唆する長いミトコンドリア断片が増加することがわかった。ミトコンドリアの分裂には、GTPase の一種である Drp1 とゴルジ体由来の小胞 (ゴルジ小胞) が分裂予定部位に連続して呼び込まれる必要がある。CAMSAP2 KO 細胞で Drp1 とゴルジ小胞の局在を観察した結果、ミトコンドリア上に Drp1 は局在したが、ゴルジ小胞はミトコンドリア上のみならず細胞質全体で減少しており、結果として Drp1 局在位置での分裂頻度が低下した。これらの結果から、CAMSAP2 はゴルジ小胞の形成を促進することでミトコンドリアの分裂を正常に進行させることが示唆された。

16:00-17:30 (2023-06-29 16:00 - 17:30 | ポスター会場)

P - D2 - P001 - 041

Intraflagellar transport dynamics between the two flagella in *Chlamydomonas reinhardtii*

* Hiroaki Ishikawa (University of California, San Francisco), Wallace Marshall (University of California, San Francisco)

キーワード: cilia, flagella, IFT

Cilia/flagella are microtubule-based organelles that protrude from the surface of most cells, are important to sense extracellular signals and make a driving force for fluid flow. Because the length of cilia is correlated with their function, cells must have cilia of adequate length in order to perform their function properly. However, it is unclear how cells regulate the length of their cilia/flagella. To understand the ciliary/flagellar length control, we use a biflagellate unicellular green alga, *Chlamydomonas reinhardtii*, as a model system. *Chlamydomonas* cells maintain a flagellar length of about 12 μm and are known to equalize the length of both flagella. For example, when one flagellum is amputated, the amputated flagellum grows, and the other flagellum shortens. When the two flagella reach equal length, both flagella grow at the same rate. Assembly and maintenance of flagellar length require an active transport process known as intraflagellar transport (IFT). Since no protein synthesis occurs in the flagellum, IFT carries new flagellar materials from the cell body to the tip of the flagella and brings back turnover products to the cell body. It is helpful to know the behavior of IFT and flagellar materials in developing the length control model. To clarify the behavior of IFT, we established a *Chlamydomonas* strain that expresses a photoconvertible fluorescent protein fused with IFT proteins. We observed that IFT proteins were rapidly exchanged between the two flagella. The equilibration time could be estimated by a simple diffusion-based model. Additionally, we found that around 25% of the photoconverted fluorescence signal was lost during imaging. To consider photobleaching, this finding suggested that most of the IFT proteins were reused and re-entered into the flagella. These results help in understanding the length control mechanism of cilia/flagella.

in vitro 再構成系を用いた膜間コンタクトの可視化手法の確立

* 山本 啓 (京都大学 理学研究科), 宮崎 牧人 (京都大学 理学研究科 | 理化学研究所 生命機能科学研究センター | キュリー研究所 | JST さきがけ), 島本 勇太 (国立遺伝学研究所 | 総合研究大学院大学 生命科学研究所)

キーワード: 小胞体, 再構成, コンタクト, オルガネラ

細胞内のオルガネラ間、またはオルガネラ - 細胞膜間における接触領域では、脂質成分の交換や物質輸送が行われており、細胞内シグナル伝達系の適切な駆動を可能にしている。細胞が極性化や分裂といった特定の機能を発現するためには、オルガネラや細胞骨格といった様々な構造物が混在する中で接触領域の数や大きさ、安定性を適切に調節する必要があると考えられるが、その詳細は明らかではない。本研究では、小胞体 - 細胞膜間における接触 (ER-PM コンタクト) に着目し、混み合い状態を自在に調節可能な in vitro 再構成系で ER-PM コンタクトを可視化することで、膜間コンタクト形成の空間的な調節機構の解明を目指した。

まず、生細胞で特徴的に見られる網目状の小胞体構造を in vitro で再構成する実験系の確立に取り組んだ。これまでに、カエル卵抽出液を遠心分離することで得られる小胞体画分と細胞質画分を混合することで、網目状の小胞体が再構成されることを確認している。次に、ER-PM コンタクトを導入するために、ER-PM コンタクトの蛍光プローブとして報告のある MAPPER[C. Chang et al., Cell Rep., 2013] を改変した。MAPPER は小胞体の膜貫通ドメインおよび細胞膜への局在化配列を有する。そこで、後者を His タグに置換することにより、Ni-NTA を含む脂質平面膜上において ER-PM コンタクトを形成可能とした。さらに、改変した MAPPER を安定発現する COS-7 細胞株を樹立し、MAPPER を断片化した小胞体として精製、脂質平面膜上でカエル卵由来の網目状小胞体に取り込ませ、膜間コンタクトを平面的に可視化することに成功した。現在、コンタクトの数や大きさについて、生細胞との比較を行っている。本発表では、こうした膜間コンタクトの in vitro 再構成系の開発と、今後の展望について議論したい。

USP48 Impairs Lysosomal Function to Enhance Stability of Amyloid Precursor Protein and Production of Amyloid-beta

* Yung-Feng Liao (Academia Sinica), Po-Fan Wu (Academia Sinica), Yun-Wen Chen (Academia Sinica)

キーワード: Amyloid precursor protein, Amyloid-beta, Ubiquitin-specific peptidase 48, Alzheimer's disease

Alzheimer's disease (AD) typically presents as a progressive decline in cognitive function, and the only approved therapeutics are symptom-alleviating medicines that cannot reverse disease progression. A major pathological hallmark of AD is amyloid plaques, which are largely composed of Amyloid-beta (A β) peptides derived from the amyloidogenic proteolysis of amyloid precursor protein (APP). Although previous studies have demonstrated that alterations in ubiquitin E3 ligase activity can markedly affect the stability of APP, it remains unknown if and how deubiquitinase functions might contribute to APP proteostasis. Given that the expression of ubiquitin-specific peptidase 48 (USP48) is increased in the hippocampus of AD brains, we sought to determine whether modulation of USP48 would affect the production of A β by altering the degradation of APP. Using a HEK-derived cell line that constitutively expresses yellow fluorescent protein-tagged APP (APP-YFP), we demonstrated that overexpression of USP48 significantly increases APP stability and the production of secreted A β , independent of its deubiquitinase activity. Consistently, downregulation of USP48 significantly enhanced the lysosomal degradation of APP and reduced the production of secreted A β peptides. Finally, we validated the in vivo function of USP48 by stereotaxically injecting adeno-associated virus encoding USP48-targeting shRNA into the hippocampus of APP/presenilin-1 (PS1) transgenic mice. Our results showed that the cognitive functions of APP/PS1 mice are dramatically improved after hippocampal knockdown of USP48, concomitant with alleviation of hippocampal amyloidopathy. The present findings suggest that USP48 may participate in a non-canonical pathway that governs the proteostasis of APP and the production of A β via effects on lysosomal degradation of APP. Thus, USP48 may be considered as a novel therapeutic target for AD.

高浸透圧ストレス下で形成される p62 顆粒の分子基盤

* 田村 直輝 (福島県立医科大学 医学部), 和栗 聡 (福島県立医科大学 医学部)

キーワード: オートファジー, 浸透圧ストレス, 液滴, ユビキチン

脂質膜のない非膜性オルガネラ (membraneless organelle: MLO) の多くは、液-液相分離という物理的な性質によって形成される。MLO は一般的に可逆性を持つが、凝集体などの不可逆性の構造体に変化すると様々な神経変性疾患を引き起こすことが分かっており、MLO の性状の理解が課題となっている。p62 はオートファジーのレセプター分子として知られており、オートファジー隔離膜と分解対象物の間を橋渡しする機能を有している。近年の研究から、p62 には p62 顆粒と呼ばれる MLO を形成することが明らかとなったが、p62 顆粒の分子組成については未だ不明な点が多い。そこで本研究では、我々が以前に報告した高浸透圧ストレス下に形成される p62 顆粒について、その分子基盤を解析した。

我々は前大会において、高浸透圧ストレスに曝されたヒト培養細胞の細胞質中に p62 顆粒が形成され、オートファジー経路で選択的に分解されることを報告した。p62 顆粒には p62 の他に NBR1 などのオートファジーレセプター分子や K48 および K63 ポリユビキチン鎖が構成因子として含まれることが分かっていたが、今回新たに Keap1 も p62 顆粒の一部として分解されていることが分かった。Keap1 の分解は転写調節因子 Nrf2 の活性化を引き起こすことが分かっており、現在 Nrf2 の下流因子を解析中である。さらに、ユビキチン結合ドメインを持つ Ubiquilin family が p62 顆粒近傍に局在することも明らかになった。興味深いことに、Keap1 とは異なり Ubiquilin family はオートファジーでは分解されなかった。以上から、高浸透圧ストレス下において形成される p62 顆粒とその周辺には異なる挙動を示す多彩な分子群が集積していることが明らかになった。現在、各分子の局在や機能を詳細に解析中である。

ポストゴルジ輸送を介した酵母 Rab5 ホモログ Vps21p 活性化機構の解明

* 島村 洋輝 (東京理科大学先進工学部生命システム工学科)

キーワード: エンドサイトーシス, Rab5, N 型糖鎖修飾酵素, フリッパーゼ

エンドサイトーシスは細胞膜の陥入により形成されたクラスリン被覆小胞を介して細胞外の物質や細胞膜タンパク質を細胞内に取り込む機構である。クラスリン被覆が解離すると、エンドサイトーシス小胞はエンドソームと融合することにより積み荷をエンドソームからリソソーム/液胞へと輸送する。低分子量 GTPase である Rab5 は真核生物で幅広く保存されている低分子 GTPase であり、エンドサイトーシス経路のエンドソーム形成の鍵因子である。出芽酵母 Rab5 ホモログ Vps21p はエンドサイトーシス経路で重要な働きをしているほか、ゴルジ体から液胞に至るポストゴルジ経路において必要とされる。Vps21p の活性は従来エンドサイトーシス経路において制御されると考えられていたが、最近の研究において私達は Vps21p の活性が主にゴルジ体からの輸送経路により制御されていることを明らかにした。本研究において、私達はゴルジ体局在タンパク質の変異体を用いて Vps21p のエンドソーム局在に影響を与える変異体を探索し、N 型糖鎖修飾酵素が Vps21p の活性化に関わることを明らかにした。さらに、Vps21p の活性化に、ゴルジ体で機能する PS フリッパーゼ複合体の構成因子である Cdc50 ファミリータンパク質の糖鎖修飾が必要であることを明らかにした。これらの結果はゴルジ体における PS の配向性が Vps21p の活性制御に重要であることを示唆している。

ULK1 による p62 液滴のリン酸化は、レドックス非依存的なストレス応答を制御する

* 一村 義信 (順天堂大学大学院 医学研究科 器官・細胞生理学), 池田 良 (順天堂大学大学院 医学研究科 器官・細胞生理学 | 新潟大学大学院 医歯学総合研究科 耳鼻咽喉科・頭頸部外科学分野), 能代 大輔 (北海道大学 遺伝子病制御研究所 生命分子機構分野), 森下 英晃 (順天堂大学大学院 医学研究科 器官・細胞生理学), 高田 周平 (順天堂大学大学院 医学研究科 器官・細胞生理学), 蔭山 俊 (順天堂大学大学院 医学研究科 器官・細胞生理学), 藤岡 優子 (北海道大学 遺伝子病制御研究所 生命分子機構分野), 船越 智子 (順天堂大学大学院 医学研究科 器官・細胞生理学), 小松 聡子 (順天堂大学大学院 医学研究科 器官・細胞生理学), 荒井 律子 (福島県立医科大学 医学部 解剖・組織学講座), Ryzhii Elena (福島県立医科大学 医学部 解剖・組織学講座), 阿部 学 (新潟大学 脳研究所 モデル動物開発分野), 古賀 友紹 (熊本大学 発生医学研究所 発生制御部門 細胞医学分野), 中尾 光善 (熊本大学 発生医学研究所 発生制御部門 細胞医学分野), 崎村 建司 (新潟大学 脳研究所 モデル動物開発分野), 堀井 新 (新潟大学大学院 医歯学総合研究科 耳鼻咽喉科・頭頸部外科学分野), 和栗 聡 (福島県立医科大学 医学部 解剖・組織学講座), 野田 展生 (北海道大学 遺伝子病制御研究所 生命分子機構分野), 小松 雅明 (順天堂大学大学院 医学研究科 器官・細胞生理学)

キーワード: p62, ULK1, 液-液相分離, KEAP1, NRF2

NRF2 は酸化ストレス応答を担う転写因子であり、通常、酸化還元依存的に制御されている。液-液相分離により形成された p62 body は、Ser349 (p62^{Ser349}) がリン酸化された p62 を含み、酸化還元非依存的な NRF2 活性化に関与する。しかし、p62^{Ser349} のリン酸化制御機構や生理的意義は不明なままである。今回、我々は p62^{Ser349} のリン酸化責任キナーゼとして ULK1 を同定した。ULK1 はその天然変性領域を介して p62 と直接相互作用し、p62 body に局在化、p62^{Ser349} をリン酸化していた。ヒトの p62^{Ser349} に相当する 351 番目の Ser を Glu に置き換えたリン酸化模倣 p62^{S351E/+} ノックインマウスは、恒常的な NRF2 活性化状態となり、食道や前胃の上皮の過角化が起こり、食道および噴門が狭窄した。その結果、p62^{S351E/+} ノックインマウスは顕著な栄養失調と脱水による成長遅延を起こした。この表現型は NRF2 阻害因子である Keap1 欠損マウスの表現型模写であった。以上の結果は、酸化還元非依存的な NRF2 活性化経路の生理的重要性をはじめて明らかにしただけでなく、その制御に関わる液-液相分離の役割について新たな知見を与えるものである。

卵母細胞-胚遷移において後期エンドソーム / リソソーム活性を制御する新規因子 GREN-1 の解析

* 須藤 俊一 (群馬大学・生体調節研究所・細胞構造分野), 寺岡 滉一 (群馬大学・生体調節研究所・細胞構造分野), 川崎一郎 (群馬大学・生体調節研究所・細胞構造分野), 佐藤 美由紀 (群馬大学・生体調節研究所・生体膜機能分野), 佐藤 健 (群馬大学・生体調節研究所・細胞構造分野)

キーワード: 母性膜タンパク質, 卵母細胞-胚遷移, リソソーム, P 顆粒, *C. elegans*

受精は生命誕生のスタートポイントである。この際、卵母細胞は精子との膜融合によって接合体へと変化し、全能性を獲得する。受精前は卵母細胞由来の母性 mRNA やタンパク質が機能しているが、受精後、徐々に母性因子が分解されるとともに、接合体由来の mRNA やタンパク質が合成され、初期胚へと変化していく (卵母細胞-胚遷移)。当研究室では、これまで線虫 *C. elegans* を用いることにより、卵母細胞において働いた一群の母性膜タンパク質が受精後に選択的にエンドサイトーシスされ、リソソームにおいて分解されることを見出してきた。この際、分解される基質としては表層顆粒に局在する CAV-1 や卵殻を形成するキチン合成酵素 CHS-1、受精関連因子等が同定されている。その一方で、なぜこれらの膜タンパク質が選択的に分解されるか、またその分子機構についてはいまだ不明な点が多い。そこで、本研究では線虫を用いた RNAi スクリーニングにより、母性膜タンパク質の分解に関与する新規因子の探索を行った。その結果、発現抑制すると CAV-1::GFP 等が肥大化した後期エンドソームに蓄積し、分解が阻害される新規因子を同定した。蛍光タンパク質をこの因子に融合し、生殖腺において発現させたところ、この因子は主に線虫の生殖顆粒である P 顆粒に局在していることが明らかとなった。このことから、我々はこの新規因子を GREN-1 (Germ-granule components Regulating ENdocytic activity-1) と命名した。*gren-1* 遺伝子の発現抑制を行うと後期エンドソーム上にユビキチンシグナルが顕著に蓄積するなど、ESCRT 複合体や V-ATPase を発現抑制した際と表現型が類似していることから、GREN-1 は卵母細胞-胚遷移の際に後期エンドソームやリソソーム活性を制御する新規因子であると考えられる。

オートファゴソーム膜を介した筋小胞体のリモデリング

* 葛西友梨 (東京工業大学大学院 生命理工学院), 藤田尚信 (東京工業大学大学院 生命理工学院 | 東京工業大学 科学技術創成研究院 細胞制御工学研究センター)

キーワード: Drosophila, Autophagy, muscle, sarcoplasmic reticulum, remodeling

筋細胞は多核の細胞であり、筋原線維や筋小胞体などの高度に組織化されたユニークなオルガネラをもつ。筋細胞は非常に長寿であり、運動状態や栄養状態などの変化に応じて、萎縮と肥大を繰り返している。この筋細胞リモデリングでは、筋原線維だけでなく、筋小胞体などのオルガネラもリモデリングされるが、再現性が良くハイスループットな解析系がないことから、そのメカニズムは十分に明らかにされていない。私たちはショウジョウバエの変態期に、幼虫の一群の筋細胞がオートファジーを介して成虫の筋細胞に作り替えられる現象を見出した。この現象は、筋細胞リモデリングを発生に伴って観察できる唯一の例であり、筋細胞リモデリングの良い解析モデルであると考えられる。さらに形態的な解析から、オートファゴソームの形成に働く ATG 遺伝子の機能を抑えた際に、筋小胞体の形態に大きな異常が見られることを見出した。これより、筋小胞体リモデリングにオートファジーが重要であることが示唆される。そこで本研究では、オートファジーを介した筋小胞体リモデリングのメカニズムの解明に取り組んだ。野生型の筋細胞では、筋小胞体は網目状の構造として観察されるが、ATG 遺伝子をノックダウンした筋細胞では、筋小胞体マーカー陽性の凝集化した構造が見られた。電子顕微鏡観察から、これらは多層に折り重なった筋小胞体であることが判明した。一方、オートファゴソームとリソソームの融合を抑えた際には、凝集した構造体は見られず、筋小胞体マーカー陽性のベシクルが蓄積した。また、この構造体はオートファゴソームマーカーである Atg8 と共局在した。その際、筋小胞体マーカーはオートファゴソームの内部ではなく膜上に局在していた。これらの結果より、ハエの変態期に見られる筋細胞リモデリングにおいて、筋小胞体はオートファジーのカーゴではなく、オートファゴソーム膜を介してリモデリングされると考えられる。

膜ダイナミクスに連動したメンブレンコンタクト形成の時空間制御

* 佐藤 耀 (新潟大学大学院医歯学総合研究科分子細胞機能学分野), 河野 麻実 (新潟大学大学院医歯学総合研究科分子細胞機能学分野), 吉武 佳慧 (新潟大学大学院医歯学総合研究科分子細胞機能学分野), 五十嵐 道弘 (新潟大学大学院医歯学総合研究科分子細胞機能学分野), 中津 史 (新潟大学大学院医歯学総合研究科分子細胞機能学分野)

キーワード: メンブレンコンタクト, 膜ダイナミクス, ホスファチジルイノシトール 4 リン酸, Oxysterol-binding protein-related proteins, 脂質輸送

メンブレンコンタクトとは、細胞膜や異なるオルガネラ膜同士が 10 ~ 30 nm の距離で近接し、タンパク質分子によって架橋された機能的領域を指す。近年、その機能が徐々に明らかになり、脂質輸送タンパク質を介した脂質輸送制御の場となることが判明しつつある。

Oxysterol-binding protein-related proteins (ORPs) は自身が有する膜貫通領域や VAP 結合領域を介して小胞体に局在する脂質交換輸送タンパク質ファミリーであり、イノシトールリン脂質の一つであるホスファチジルイノシトール 4 リン酸 (PI4P) に依存してメンブレンコンタクトを形成する。PI4P は細胞膜、エンドソームおよびゴルジ体に豊富に存在することから、これらの膜と小胞体間で ORP コンタクトが形成され、脂質交換輸送が作動することを証明してきた。しかしながら、ORP コンタクトを介した脂質交換輸送の生理的役割については、未だ不明な点が多い。

ORPs の機能解明には ORP コンタクトの形成制御と動態特性の理解が必要であると考えられる。つまり、細胞プロセスにおける ORP コンタクトが形成されるタイミング (時) と場所 (空間)、そして形成後の ORP コンタクトの動態を詳細に解析することで、ORP がどのように細胞機能を制御しているのかを明らかにできるのではないかと考えた。そこで本研究では、細胞膜-小胞体間でメンブレンコンタクトを形成する ORPs について生細胞イメージング解析を行い、ORPs コンタクト形成プロセスの解明を試みた。その結果、ORPs コンタクトは時空間特異的に形成と消失を繰り返す極めて動的な構造体であること、さらにこの動態は細胞骨格系の密な連携により膜ダイナミクスと連動していることを見出した。本大会では、ORPs コンタクト動態の特徴について細胞骨格系による制御メカニズムを中心に議論したい。

自然免疫分子 STING の恒常活性化体の機能は野生型とのヘテロ複合体形成により抑制される

* 進藤 瑠璃 (東北大学大学院生命科学研究所), 朽津 芳彦 (東北大学大学院生命科学研究所), 向井 康治朗 (東北大学大学院生命科学研究所), 田口 友彦 (東北大学大学院生命科学研究所)

キーワード: STING, STING-associated vasculopathy with onset in infancy (SAVI), membrane traffic

自然免疫応答シグナル cGAS-STING 経路は、細胞質に露出した DNA に応答して、抗ウイルス応答を誘導するシグナル経路である。小胞体に局在する STING は DNA 刺激に応答し、ゴルジ体へ移行してキナーゼ TBK1 を活性化し、I 型 IFN や炎症性サイトカインを産生する。2014 年に STING の点変異に起因する自己炎症性疾患 SAVI (STING-associated vasculopathy with onset in infancy) が報告された。この疾患は肺の繊維化を伴う間質性肺炎や皮膚の炎症を示す常染色体顕性の遺伝性疾患である。ほぼ全ての SAVI 患者が野生型と病気型の両方のアレルを持つヘテロ接合体である。近年マウスモデルを用いた解析から、ヘテロ接合体マウスでは I 型 IFN 応答の亢進や皮膚病変、重度の呼吸器不全が見られる一方で、病気型ホモ接合体マウスは胚性致死であることが報告された。このことから、生存において野生型は病気型に対して顕性に機能すると考えられるが、その基盤となる分子機構は不明であった。本研究では、野生型と病気型を共発現する細胞を樹立し、分子細胞生物学的な解析を行なった。その結果、(i) 野生型と病気型はヘテロ複合体を形成すること、(ii) 病気型のホモ複合体は、下流のキナーゼ TBK1 を活性化するゴルジ体へと到達している一方で、ヘテロ複合体は主に小胞体に局在し、活性を持たないこと、などが明らかになった。以上の結果は、野生型 STING がヘテロ複合体形成を介して、小胞体へと病気型 STING を留めることにより、病気型 STING の活性を抑制できることを示している。この知見は、野生型は病気型に対して生存において顕性に機能するというマウス遺伝学の結果の説明を与えるものである (Shindo and Kuchitsu et al., *Frontier in Cell and Dev Biol*, 2022)。

ATG-18 の非オートファジー機能を介した寿命制御機構の解明

* 高橋 一徹 (大阪大学 大学院生命機能研究科 細胞内膜動態研究室), 塩田 達也 (大阪大学 大学院生命機能研究科 細胞内膜動態研究室), 吉川 治孝 (徳島大学 先端酵素学研究所), 小迫 英尊 (徳島大学 先端酵素学研究所), 吉森 保 (大阪大学 大学院生命機能研究科 細胞内膜動態研究室 | 大阪大学 大学院医学系研究科), 中村 修平 (大阪大学 大学院生命機能研究科 細胞内膜動態研究室 | 大阪大学 大学院医学系研究科 | 大阪大学 高等共創研究院)

キーワード: 老化, 線虫, 寿命

生物の老化や寿命は制御されているプロセスであることが分かりつつあり、これまでに寿命延長に寄与するいくつかの分子経路が明らかになっている。近年、これら複数の寿命延長経路では共通して細胞内の大規模分解システムであるオートファジーが活性化しており、これが寿命延長に必須であることが報告されている。しかしながら、寿命延長におけるオートファジーの組織特異的な役割の詳細な解析はほとんどない。そこで、長寿モデルの一つである生殖細胞欠損線虫 *glp-1* 変異体を用いて、神経、腸、表皮、筋肉など主要組織特異的にオートファジー関連遺伝子 (ATGs) をノックダウンし、長寿におけるオートファジーの組織特異的な役割を調べた。その結果、*bec-1*、*atg-2*、*atg-7* など複数の ATG 遺伝子について単一組織でのノックダウンでは *glp-1* の寿命延長に影響を及ぼさないことが分かった。その一方、他の ATG 遺伝子とは異なり、神経あるいは腸特異的な *atg-18* のノックダウンにより *glp-1* の寿命延長が抑制されることを見出した。ATG-18 は ATG-2 と共に複合体を形成しオートファジーに必須の働きをすることが知られているが、我々の結果から神経・腸における ATG-18 はオートファジーと独立した機能を持ち、これが寿命の制御に必須である可能性が示唆された。この予想外の ATG-18 の機能を明らかにすべく、ATG-18 のインタラクトーム解析を実施し、野生型に比べて長寿個体で ATG-18 との結合が増加している因子を同定した。さらに、これらの因子を *glp-1* でノックダウンし、生存率を指標としたスクリーニングにより ATG-18 と結合して寿命延長に寄与する候補因子を複数見出した。現在、これらの候補因子の機能を元に ATG-18 による寿命制御メカニズムの詳細解析を行っている。

Ykt6 のダブルプレニル化はオートファジー・リソソーム系の維持に重要である

* 立石正規 (東北大学加齢医学研究所基礎加齢研究分野), 後藤孝太 (東北大学加齢医学研究所基礎加齢研究分野), 堀内久徳 (東北大学加齢医学研究所基礎加齢研究分野), 白川龍太郎 (東北大学加齢医学研究所基礎加齢研究分野)

キーワード: SNARE, プレニル化, オートファジー, リソソーム, ゴルジ体

Ykt6 は酵母からヒトまで高度に保存された SNARE であり、ゴルジ体の維持、リソソーム酵素の輸送、オートファゴソーム・リソソーム融合などに重要な役割を果たす。Ykt6 は他の SNARE と違い膜貫通領域を持たず、代わりに C 末端に高度に保存された 2 つのシステインを持つ (ヒトでは Cys194, Cys195)。Cys195 はプレニル化 (翻訳後脂質修飾) の一種であるファルネシル化を受けることが知られている。一方、Cys194 は可逆的にパルミトイル化を受けるとい説が唱えられていた。しかしながら我々は最近、新規プレニル転移酵素ゲラニルゲラニル転移酵素 3 型 (GGT3) を同定し、GGT3 が Ykt6 の Cys194 を不可逆的にゲラニルゲラニル化することを見出した (Shirakawa et al., EMBO J, 2020)。これはファルネシル化とゲラニルゲラニル化の両方を受ける初めての例であった。GGT3 欠損細胞はゴルジ体の形態および機能に異常を示し、Ykt6 のゲラニルゲラニル化が Ykt6 の SNARE としての機能に重要であることが明らかとなった。さらに、GGT3 欠損細胞では autophagic vacuole の蓄積が観察され、恒常的オートファジーに異常があることが示唆された。その原因を明らかにするため野生型細胞と GGT3 欠損細胞における Ykt6 の結合タンパク質の比較を試みた。Ykt6 の C 末端はプレニル化に重要であり、N 末端は GGT 3 との結合に必要であるため、Ykt6 そのものにアフィニティタグをつけることはできなかった。この問題を解決するために Ykt6 を特異的に認識するナノボディを作成し、これを用いて Ykt6 を含む SNARE 複合体を網羅的に解析した。本発表では、オートファジー・リソソーム系の維持における Ykt6 のゲラニルゲラニル化の役割について議論したい。

The analysis of the CD63 dynamics and release from the cells by using the lattice light sheet microscopy

* Hani Sapili (Laboratory of Molecular Medicine and Cell Biology, Division of Biological Science, Nara Institute of Science and Technology), Tamako Nishimura (Laboratory of Molecular Medicine and Cell Biology, Division of Biological Science, Nara Institute of Science and Technology), Eiji Morita (Faculty of Agricultural and Life Science, Hirosaki University), Yuko Mimori-Kiyosie (Laboratory for Molecular and Cellular Dynamics, RIKEN Center for Biosystems Dynamics Research), Shiro Suetsugu (Laboratory of Molecular Medicine and Cell Biology, Division of Biological Science, Nara Institute of Science and Technology)

キーワード: tetraspanin CD63, Extracellular vesicles, lattice-light sheet microscopy, Plasma membrane shedding, split GFP

Extracellular vesicles (EVs) are lipid vesicles released from cells, which convey various molecules, including proteins, nucleic acids, and lipids. EVs is supposed to be generated by the release of the intraluminal vesicles of the multivesicular endosomes (MVE) or by the shedding of the plasma membrane. CD63, a member of the tetraspanin family of proteins, is widely used as a marker of EVs. In cells, CD63 is mainly localized at the endosomes, but also localized at the plasma membrane. However, the release of CD63 from the cells had not been visualized by the lattice-light sheet microscopy, which could precisely visualize the cells in three dimensions than the other conventional microscopic methods. In this study, we tracked the movement of the CD63 particles in the cells that reached to the plasma membrane and the CD63 on the plasma membrane for their possible release to the extracellular space. To visualize the CD63, we used the split GFP to monitor the CD63 well after their biogenesis. The CD63 particle release occurred by the shedding of the plasma membrane. On the other hand, the fusion of CD63 particles to the plasma membrane was observed, which imply the MVE fusion events. Interestingly, the shedding had a higher frequency compared to that of the fusion. Therefore, CD63 particles, which were thought to be the CD63-containing vesicles, could also be released by the shedding of the plasma membrane.

16:00-17:30 (2023-06-29 16:00 - 17:30 | ポスター会場)

P - D2 - P001 - 054

動物細胞の TGN における膜交通のライブイメージング解析

* 松浦 公美 (理化学研究所), 山本 航 (理化学研究所), 戸島 拓郎 (理化学研究所), 中野 明彦 (理化学研究所)

キーワード: 膜交通, ゴルジ体, TGN

真核生物の細胞内には核や小胞体、ゴルジ体、ミトコンドリアなどの細胞内小器官（オルガネラ）が存在する。それぞれのオルガネラは細胞の生命維持に機能しており、膜で包まれた輸送キャリア（小胞やチューブ）によってタンパク質等の物質のやり取りをしている。このような輸送の仕組みを膜交通とよび、その中心的な役割を果たすのがゴルジ体およびトランスゴルジ網（TGN）である。小胞体で新規合成された積み荷タンパク質（cargo）はゴルジ体でさまざまな修飾を受けた後、TGN で選別されて最終目的地へと輸送される。

ゴルジ体・TGNの構造は生物種によって大きく異なり、植物細胞ではミニスタックと呼ばれる複数の槽が積み重なった層板構造が細胞質中に散在している。一方、動物細胞ではミニスタックが核の近傍に集積した、ゴルジリボンとよばれる巨大な構造をもつ。最近、植物細胞において、異なる目的地に輸送される cargo とそれを認識するアダプタータンパク質、クラスリンが TGN 内で異なるサブコンパートメントに局在しているという報告がされた (Shimizu et al., 2021)。しかし、植物とは異なるゴルジ体・TGN の構造をもつ動物細胞の TGN における膜交通についてはまだ明らかになっていない点が多い。そこで本研究では、動物細胞の TGN およびポストゴルジ膜交通のライブイメージングを行った。実験には RUSH (Retention using selective hooks) 法を用いて新規合成された cargo の輸送を小胞体において同調させ、TGN から形成される輸送キャリアの挙動を観察した。また、高感度共焦点顕微鏡システム SCLIM1 を用いた観察も試みた。

16:00-17:30 (2023-06-29 16:00 - 17:30 | ポスター会場)

P - D2 - P001 - 055

動物の初期胚発生に向けたリソソーム分解系による細胞内膜系リモデリング機構

* 佐藤 健 (群馬大学生体調節研究所), 川崎 一郎 (群馬大学生体調節研究所), 杉浦 健太 (群馬大学生体調節研究所), 佐々木 妙子 (群馬大学生体調節研究所), 佐藤 美由紀 (群馬大学生体調節研究所)

キーワード: 受精, 卵母細胞, 細胞膜タンパク質, リソソーム分解, *C. elegans*

受精は精子と卵子が膜融合することにより開始される有性生物発生の出発点である。私たちは、これまで線虫 *C. elegans* を用いることにより、受精前後における卵母細胞内の膜動態をリアルタイムで解析する系を構築し、初期胚発生過程においてリソソーム分解系を介した細胞内リモデリングが起きることを明らかにしてきた。例えば、卵母細胞の減数分裂期に働く一群の細胞膜タンパク質が受精直後にエンドサイトーシスされリソソームにおいて選択的に分解されることを見出し、受精卵の細胞膜成分が体細胞分裂期に向けてリモデリングされることを明らかにしてきた (MBC 2006, JCS 2008, Development 2014)。また、マウス卵においても非侵襲的に細胞内の物質動態をライブイメージングできる系を開発することにより、様々な卵母細胞膜タンパク質が2細胞期において選択的にエンドサイトーシスされ、リソソームにおいて分解されることを明らかにしている (Development, 2021)。さらに、これらの初期胚ではエンドソーム上において時期特異的にユビキチン化タンパク質が蓄積することを見いだしている。そこで、この初期胚における母性細胞膜タンパク質の選択的分解機構を明らかにするために、*C. elegans* を用いて RNAi スクリーニングを行い、初期胚における母性膜タンパク質の分解に関与する新規因子を同定した。この因子は生殖腺において顕著に発現しており、細胞膜及びエンドソームに局在していた。この因子を欠損させると、様々な母性細胞膜タンパク質の分解が抑制され、エンドソーム上で観察される K63 結合型ポリユビキチン化シグナルが顕著に減少することが判明した。本発表では、受精を機に展開される細胞膜成分の取捨選択による細胞膜リモデリングの分子メカニズムとその生理機能について報告する。

16:00-17:30 (2023-06-29 16:00 - 17:30 | ポスター会場)

P - D2 - P001 - 056

Prohibitins restrain OMA1-DELE1-mediated ISR and modulate cellular viability under ferroptosis

* Mashun Onishi (Max Planck Institute for Biology of Ageing), Takashi Tatsuta (Max Planck Institute for Biology of Ageing), Hendrik Nolte (Max Planck Institute for Biology of Ageing), Maximilian Schuetter (Max Planck Institute for Biology of Ageing), Patrick Gialvalisco (Max Planck Institute for Biology of Ageing), Thomas Langer (Max Planck Institute for Biology of Ageing)

キーワード: Mitochondria, Cell death, Ferroptosis, Prohibitin, OMA1

Prohibitins form a complex (PHB complex) that is proposed to serve as membrane scaffolds in the inner mitochondrial membrane (IMM), which may act to limit substrates access to IMM proteases. Loss of prohibitins disturbs mitochondrial integrity, sensitizing cells to apoptosis, however, whether the loss of prohibitins affects other types of cell death remain uncertain. Here we demonstrate that PHB-deficient cells are protected against ferroptosis, an iron-dependent cell death partly caused by cysteine deprivation which limits the synthesis of glutathione. Loss of PHB leads to overactivation of OMA1, a metalloprotease in the IMM, inducing integrated stress response : ISR. We found that OMA1 and DELE1 (a key factor to induce ISR), are important for PHB2-deficient cells to fight against ferroptosis. In addition, ISR upon loss of PHB leads to accumulation of cysteine and enzymes acting in glutathione metabolism. Collectively, we propose that PHB acts to limit OMA1-DELE1-mediated ISR, contributing to cellular vulnerability under ferroptosis.

16:00-17:30 (2023-06-29 16:00 - 17:30 | ポスター会場)

P - D2 - P001 - 057

自然免疫分子 STING のオルガネラ間移行を駆動する小胞体 - ゴルジ体コンタクトサイト形成因子の同定

* 茂谷 康 (徳島大先端酵素学研), 田良島 典子 (徳島大院薬), 西野 耕平 (徳島大先端酵素学研), 山内 駿弥 (徳島大院薬), 南川 典昭 (徳島大院薬), 小迫 英尊 (徳島大先端酵素学研)

キーワード: Stimulator of interferon genes (STING), ACBD3/GCP60, オルガネラコンタクトサイト, 自然免疫, ER exit sites (ERES)

Stimulator of interferon genes (STING) は、ウイルスや自己由来の DNA が細胞質中に暴露された際に生成される環状ジヌクレオチドを認識する小胞体膜受容体タンパク質である。環状ジヌクレオチドの結合によって活性化された STING は小胞体からゴルジ体へ移動し、I 型インターフェロン誘導を介して自然免疫系を活性化する。しかしながら、STING が小胞体からゴルジ体へ移行する仕組みについてはほとんどわかっていない。今回私たちは、ゴルジ体への輸送を低温でブロックする方法や、独自に開発した高膜透過性人工環状ジヌクレオチドを用いたライブイメージングにより、STING の小胞体脱出過程を可視化した。その結果、リガンド結合によって STING が COPII 陰性の非古典的な小胞体脱出領域に集積することがわかった。そこで STING の小胞体脱出領域の分子実体を明らかにするため、大豆由来の改変型アスコルビン酸ペルオキシダーゼ APEX2 を用いて STING 近接分子を探索し、ゴルジ体常在タンパク質 ACBD3/GCP60 を同定した。超解像イメージングおよび免疫沈降実験から、ゴルジ体膜に表在する ACBD3 が小胞体膜上のリガンド結合型 STING と会合することによって小胞体とゴルジ体の接触が起こり、その結果 STING 特異的な小胞体脱出領域が形成されることが明らかとなった。ACBD3 を欠損させると、STING の小胞体脱出領域への集積とゴルジ体への移行が阻害され、I 型インターフェロン応答が低下した。以上より、STING は従来の COPII 陽性小胞体脱出領域 (ERES) と異なる ACBD3 陽性小胞体 - ゴルジ体コンタクトサイトを經由してゴルジ体へ移行することが示された。

16:00-17:30 (2023-06-29 16:00 - 17:30 | ポスター会場)

P - D2 - P001 - 058

The I-BAR protein-dependent extracellular vesicles as a possible carrier of amyloid beta

* Lee Shin Yong (Division of Biological Science, Nara Institute of Science of Technology), Takehiro Inaba (Division of Biological Science, Nara Institute of Science of Technology | Division of Advanced Research Promotion, Institute of Comprehensive Medical Research, Aichi Medical University), Tamako Nishimura (Division of Biological Science, Nara Institute of Science of Technology), Shiro Suetsugu (Division of Biological Science, Nara Institute of Science of Technology)

キーワード: amyloid precursor protein, amyloid beta, extracellular vesicles, I-BAR domain proteins

The filopodia that are induced by the I-BAR domain can generate protrusion-derived extracellular vesicles. The I-BAR domain proteins sense membrane curvature and generate the plasma membrane protrusions. Some studies have found that the pathogenic cargo-loaded EVs facilitate amyloid beta propagation in Alzheimer's Disease (AD). Amyloid precursor protein (APP) is cleaved to β -CTFs and then further cleaved to amyloid beta. Here we investigate whether the IRSp53-derived vesicles carry APP or its cleaved proteins. Using HEK293 as a model, we purified EVs from cells expressing the Insulin receptor substrate 53 kDa (IRSp53) I-BAR domain together with APP that carries the human AD mutation. The EVs were harvested through differential centrifugation and were characterized by the number of vesicles and their protein contents by Western blotting. The number of larger EVs from the cells co-expressing both the proteins were significantly larger than that from the cells expressing I-BAR alone or APP alone. The cleaved product of the APP mutant was found in the large EV fraction when IRSp53 I-BAR domain was expressed with the APP mutant. In cellular filopodia, the APP mutant was colocalized with IRSp53 I-BAR. These findings suggested that IRSp53-dependent vesicles contain AD-related proteins, suggesting potential involvement of IRSp53 in EVs that might relate to AD.

16:00-17:30 (2023-06-29 16:00 - 17:30 | ポスター会場)

P - D2 - P001 - 059

磁性ナノ粒子を用いたオルガネラ膜損傷の研究

* BOLDBAATAR BAYARKHUU (岩手大学大学院 総合科学研究科 理工学専攻 生命科学コース), 西館 直樹 (岩手大学大学院 総合科学研究科 理工学専攻 材料科学コース), 西條 未来 (岩手大学大学院 総合科学研究科 理工学専攻 物質科学コース), 米川 悠太 (岩手大学大学院 総合科学研究科 理工学専攻 生命科学コース), 及川 歩起 (岩手大学大学院 総合科学研究科 理工学専攻 材料科学コース), 大柳 洸一 (岩手大学大学院 総合科学研究科 理工学専攻 材料科学コース), 小林 悟 (岩手大学大学院 総合科学研究科 理工学専攻 材料科学コース), 芝崎 祐二 (岩手大学大学院 総合科学研究科 理工学専攻 物質科学コース), 芝 陽子 (岩手大学大学院 総合科学研究科 理工学専攻 生命科学コース)

キーワード: 膜張力, オルガネラ膜, 膜損傷, 磁性ナノ粒子, 細胞毒性

細胞膜張力が細胞の形状やエンドサイトーシスに影響することがわかっており、光ピンセットなどで測定されている。現状、オルガネラ膜については、細胞内に存在するため、直接の膜張力測定は困難である。しかし、オルガネラ膜の破れやすさを定量できれば、膜の損傷を力学的に評価でき、薬剤の放出機構や病原体による膜損傷機構の解明につながる。

本研究では、磁性ナノ粒子を動物細胞に取り込ませ、オルガネラ内に局在したナノ粒子を磁場によって運動させ、膜の破れやすさの定量化を試みた。本実験では酸化鉄ナノ粒子を利用し、ポリグリシドールで修飾して水に可溶化させた。また FITC を結合させ、蛍光標識を行い、最終的に 20nm 程度の大きさとなった。このナノ粒子をヒト乳がん細胞 (MCF 7) に添加し、MTT assay によって細胞毒性を調べた。72 時間培養の条件において、50-100 μ g/ml では細胞毒性が確認されなかった。この結果から、50-100 μ g/ml でナノ粒子を使用することとした。次にナノ粒子が細胞に取り込まれるか調べるため、初期エンドソームマーカータンパク質 EEA1 とリソソームマーカータンパク質 LAMP1 との共局在を調べた。その結果、ナノ粒子と EEA1 との共局在が 20 分で観察され、20 分で初期エンドソームへ輸送されていると考えられる。この時、外から磁場を印加した場合にオルガネラが損傷するか調べるため、膜損傷の修復に関与する CHMP4B を用いて局在を調べた。MCF7 に 20 分取り込ませた後に、小型コイルによって直流、または交流の磁場を与えた。結果、磁場の印加時に CHMP4B との共局在を確認した。このことはオルガネラ内のナノ粒子が外から印加した磁場によってオルガネラ膜に損傷を与えたことを示唆する。

今後は、磁場の付与によってナノ粒子が生み出す力を見積もり、初期エンドソーム膜がどの程度の力で破れるのかを定量化を試みる。

16:00-17:30 (2023-06-29 16:00 - 17:30 | ポスター会場)

P - D2 - P001 - 060

ArfGAP ファミリー、SMAP1 の Weibel Palade Body 分解の阻害機構の解析

* 八重樫 大 (岩手大学大学院 総合科学研究科 理工学専攻 生命科学コース), 篠山 壮佑 (岩手大学大学院 総合科学研究科 理工学専攻 生命科学コース), 齊藤 奈菜 (岩手大学大学院 総合科学研究科 理工学専攻 生命科学コース), 芝 陽子 (岩手大学大学院 総合科学研究科 理工学専攻 生命科学コース)

キーワード: ArfGAP, Weibel Palade Bodies, 分泌顆粒, 分解, オートファジー

Arf GTPase activating protein (ArfGAP) は膜輸送を調節する Arf の GTP 結合型を GDP 結合型へ変換するが、この際に積荷を選別すると考えられている。止血因子 von Willebrand Factor (vWF) は血管内皮細胞の小胞体で合成され、ゴルジ体へ輸送後、葉巻型の分泌顆粒 Weibel Palade Body (WPB) に蓄積される。WPB の長さは 0.5-5.0 μ m と幅があり、長い葉巻型 WPB (2 μ m \geq) 由来の vWF は血小板への接着能が高いことが報告されている。当研究室の先行研究によって、ArfGAP の一種、SMAP1 の欠損が血管内皮細胞 (HUVECs) における葉巻型 WPB を減少させることを発見し、リソソームでの分解を阻害すると SMAP1 欠損下の WPB 粒径が回復することが判明した。通常、SMAP1 は葉巻型 WPB の分解を阻害しており、欠損によって分解が促進され、粒状 WPB (2 μ m $<$) だけ残存している可能性がある。現在、我々は SMAP1 欠損下で WPB の分解が促進されていないか、どの分解経路かを解明するために研究している。WPB の分解経路については、オートファジー、オルタナティブオートファジー、マイクロオートファジー、クリノファジーといった可能性がある。PI3K 阻害剤 3-MA で処理すると SMAP1 欠損下の WPB の粒径が回復し、PI3K 依存的な経路でもって WPB の分解は起こっていると考えられる。LC3 を用いてオートファジーについて検証し、Rab9a を用いてオルタナティブオートファジーについて検証し、エトポシドを用いてオートファジー、オルタナティブオートファジー、マイクロオートファジーについて検証し、Lamp1 を用いてクリノファジーを検証している。今後は分解経路を明らかにしつつ、SMAP1 による WPB の分解阻害の分子機構の解明をしていく予定である。

配偶子形成時におけるセプチン細胞骨格近傍への翻訳制御因子の局在

* 田口 将大 (筑波大 分子細胞生物学 | 筑波大 ヒューマニクス), 入江 賢児 (筑波大 分子細胞生物学), 須田 恭之 (筑波大 分子細胞生物学 | 理研・光子量子工学・生細胞超解像イメージング)

キーワード: 配偶子, 翻訳制御, RNP 顆粒, セプチン, 酵母

出芽酵母の配偶子形成 (減数分裂・孢子形成) では、前孢子膜と呼ばれる膜が減数分裂後の核やオルガネラを包み込み、母細胞内に 4 つの孢子を作り出す。この過程では遺伝子発現が段階的に進行し、一部の mRNA 群は転写された後に特定の時期まで翻訳が抑制され、適切なタイミングで脱抑制されることが知られている。しかし、その詳細な分子メカニズムは未だ明らかにされていない。

そこで我々は RNA と RNA 結合タンパク質からなる RNP 顆粒の構成タンパク質 81 種の局在を孢子形成過程に沿って観察した。その結果、7 種の RNA 結合タンパク質は、前孢子膜の内側面から膜の伸長を支えるセプチン細胞骨格と共局在することを発見した。

RNP 顆粒は、翻訳抑制や安定性制御などの RNA 代謝に関わるため、セプチン近傍における RNA 代謝の制御が行われていることが予想される。したがって、セプチンに局在する mRNA 種を特定し、その翻訳ダイナミクスを可視化する実験を行うことで翻訳制御のメカニズムに迫る。現在は、セプチンに局在した RNA 結合タンパク質を免疫沈降し、結合する mRNA 種の特定を試みている。また、翻訳が一定の時期まで抑制される既知の mRNA を可視化し、時空間的な動態を解析している。

本発表では研究結果と共に時空間的な局所的翻訳制御などに関して議論を行いたい。

選択的オートファジーにおける小胞体繫留因子の機能解析

* 田邊春樹 (大阪大学大学院生命機能研究科), 東桃子 (大阪大学大学院生命機能研究科), 志摩喬之 (大阪大学大学院医学系研究科), 小迫英尊 (徳島大学先端酵素学研究所), 久万亜紀子 (大阪大学大学院医学系研究科), 吉森保 (大阪大学大学院生命機能研究科 | 大阪大学大学院医学系研究科)

キーワード: オートファジー, 選択的オートファジー, 小胞体, メンブレンコンタクトサイト

細胞が飢餓や細胞内小器官損傷などのストレスを受けると、オートファジーが誘導される。この過程ではオートファゴソームと呼ばれる二重膜構造体が細胞質成分を囲い込み、リソソームへと運び分解する。哺乳動物細胞では、オートファゴソーム膜伸長はオートファゴソームに沿うようにして湾曲する特殊な小胞体部位 (オメガソーム) で起こる。そのためオートファゴソーム形成には、小胞体特殊部位の制御や小胞体因子の関与が示唆されるが、これらについての知見は未だ少ない。

小胞体はミトコンドリアやリソソームなどの様々なオルガネラと接触することでシグナル伝達や脂質輸送などを行う。このシグナル伝達の間では膜同士が融合せず極めて近接した状態が維持され、メンブレンコンタクトサイト (MCS) と呼ばれる。Atg 欠損マウスの組織を用いたオートファジー関連候補因子のスクリーニングから、MCS でオルガネラの繫留に働くことが知られる小胞体膜タンパク質が同定されたため、この因子のオートファジーへの関与を調べた。

まず、この繫留因子の欠損によるオートファジーへの影響を調べたところ、飢餓オートファジーへの影響はほとんど見られなかった一方で、小胞体やミトコンドリア、リソソームなどのオルガネラ選択的オートファジー活性が低下した。さらに、局在観察からこの繫留因子がオートファジー誘導条件下で、ATG 依存的にオートファゴソーム形成部位に集積することを見出した。そこで、両者の相互作用部位を探索したところ、オルガネラの係留に必要とされるモチーフ様アミノ酸配列が必要であることがわかった。また、この変異体発現細胞では、選択的オートファジー活性が低下した。これらの結果から、この小胞体膜タンパク質のオートファゴソーム形成部位における繫留作用が選択的オートファジーに必要であることが示唆された。

16:00-17:30 (2023-06-29 16:00 - 17:30 | ポスター会場)

P - D2 - P001 - 063

近交系マウスにおける mtDNA 変異とその機能解析

* 佐藤 沙菜 (大阪大学)

キーワード: ミトコンドリア, ミトコンドリア DNA, マウス, ヘテロプラズミー

ミトコンドリアは ATP 産生を主な役割とするオルガネラであり、内部に独自の環状二本鎖 DNA であるミトコンドリア DNA (mtDNA) を保有している。この mtDNA は 1 細胞あたり数百 - 数千コピー存在しており、ゲノム上には呼吸鎖に必要なサブユニットがコードされている。こうした 1 細胞内で多コピー存在する mtDNA が、各細胞内で複数種の変異型 mtDNA と混在する「ヘテロプラズミー」という状態をとることがあり、変異型 mtDNA の蓄積によりミトコンドリア呼吸能が低下することも明らかになっている。

本研究では、マウスを用いて系統間での mtDNA 変異を同定し、この変異率の上昇がミトコンドリア機能制御へ及ぼす影響を明らかにすることを目的に研究を行なった。

近交系集団内において、電子伝達系の複合体のタンパク質をコードする領域に存在するヘテロプラズミーが確認された。mtDNA は母系遺伝することが知られているため、まずこの変異の次世代への伝達についてマウスを交配させることで確認した。その結果、47%の変異率を示すマウスから 76%の変異率の個体が誕生するなど、高い変異率の個体が排除されることなく、母親の変異率からは分散していくという結果が得られた。また、マウスから樹立した線維芽細胞を用いてこの変異がミトコンドリア機能へ及ぼす影響も確認した。変異率 75% の細胞株は 0% の細胞株と比較してミトコンドリアの基礎呼吸量に有意な差は見られなかったものの、最大呼吸量が低下しており、この変異はミトコンドリア呼吸を抑制する可能性があることが示された。

以上の結果から、今回確認された点変異は定常状態では細胞機能に影響しないものの、ストレス条件下などに対してミトコンドリア呼吸能の欠損を引き起こす可能性があると考えられる。

16:00-17:30 (2023-06-29 16:00 - 17:30 | ポスター会場)

P - D2 - P001 - 064

F-Actin-dependent deformation of primary cilia and pericentriolar matrix and release of selective primary cilia proteins into media by hyperosmotic shock

* Hiroshi Otani (Anatomy & Developmental Biology, Graduate School of Biomedical & Health Sciences, Hiroshima University)

キーワード: Primary cilia, actin, PCM, Hyperosmolarity, Ciliopathy

Primary cilia are antenna-like structures protruding on many mammalian cells, which are responsible for mechanical and chemical sensing in development and homeostasis. Congenital deficiencies of primary cilia cause diseases known as ciliopathies. We have been focusing on the morphological changes of the primary cilia of murine kidney collecting duct epithelial cells with hyperosmolarity as these epithelial cells experience a wide range of osmolarity. Our previous studies showed that the primary cilia got shortened/lost and the pericentriolar materials at their ciliary bases disappeared within short-term hyperosmotic shock in a concentration- and time-dependent manner. We also showed that an actin-polymerization inhibitor suppressed these morphological changes. However, the reversibility of these changes and the cilia disassembly process remained uncovered. Our transmission electron microscopy uncovered that the centrioles were kept intact with hyperosmotic shock. Western blot on the cell lysates suggested delocalization of the pericentriolar proteins. The hyperosmolarity-induced morphological changes got recovered by restoring the osmolarity. Western blots on the collected medium pellet revealed hyperosmolarity-induced release of primary cilia fragments. Taken together, hyperosmolarity induces F-actin-dependent cilia fragments release as a reversible response. Our new data shed light on the possible tight integration between actin dynamics and cilia disassembly to respond against extracellular stress.

16:00-17:30 (2023-06-29 16:00 - 17:30 | ポスター会場)

P - D2 - P001 - 065

Autophagy adaptors form sheet-like condensates on mitochondria during Parkin-mediated mitophagy

* YangZi (Department of Biochemistry and Molecular Biology Graduate School and Faculty of Medicine The University of Tokyo)

キーワード: Mitophagy, Liquid-Liquid phase separation, OPTN

During PINK1/Parkin-mediated mitophagy, autophagy adaptors are recruited to depolarized mitochondria to promote their selective degradation. Autophagy adaptors such as OPTN and NDP52 bridge mitochondria and autophagosomal membranes through binding to ubiquitinated proteins on the mitochondria and ATG8 family proteins on autophagosomes. Here, we demonstrate that OPTN and NDP52 form sheet-like phase-separated condensates with liquid-like properties on the surface of ubiquitinated mitochondria. The dynamic and liquid-like feature of OPTN condensates is important for mitophagy activity, as solidifying the OPTN-ubiquitin interaction suppresses the recruitment of ATG9A vesicles and the mitophagy activity. Based on these results, we propose a dynamic liquid-like model, rather than a stoichiometric model, of autophagy adaptor interactions during Parkin-mediated mitophagy, highlighting the importance of liquid-liquid phase separation in membrane contact likely through producing capillary forces.

16:00-17:30 (2023-06-29 16:00 - 17:30 | ポスター会場)

P - D2 - P001 - 066

ゴルジ体ストレス応答コレステロール経路による細胞死誘導機構の解析

* 都出茉莉花 (兵庫県立大学 理学研究科 生命科学専攻 生体物質化学Ⅱ分野), 若林貞夫 (兵庫県立大学 理学研究科 生命科学専攻 生体物質化学Ⅱ分野), 桜井一 (兵庫県立大学 理学研究科 生命科学専攻 生体物質化学Ⅱ分野), 山地俊之 (厚生労働省 国立感染症研究所 細胞化学部), 櫻井香里 (東京農工大学 工学研究院 生命機能科学部門), 佐々木桂奈江 (兵庫県立大学 理学研究科 生命科学専攻 生体物質化学Ⅱ分野), 花田賢太郎 (厚生労働省 国立感染症研究所 品質保証・管理部), 養王田正文 (東京農工大学 工学研究院 生命機能科学部門), 吉田秀郎 (兵庫県立大学 理学研究科 生命科学専攻 生体物質化学Ⅱ分野)

キーワード: ゴルジ体, OSW-1, 細胞死, PI4P, TGN

ゴルジ体ストレス応答とはゴルジ体の機能が不足した時 (ゴルジ体ストレス状態) にゴルジ体の機能を増強する機構である。ゴルジ体ストレスが長期化すると個体生存のために細胞死が起こるがその機構は不明である。ゴルジ体ストレス誘導剤である抗がん活性化化合物 OSW-1 を用いて小胞体からトランスゴルジネットワーク (TGN) へのコレステロール輸送及び TGN から小胞体への PI4P 輸送を阻害すると細胞死が誘導される。OSW-1 による細胞死が起こらない変異体細胞を遺伝学的スクリーニングで調べた結果、小胞体からゴルジ体へ PI を輸送する因子 PITPNB や PI をリン酸化して PI4P に変換する PI4KB などゴルジ体での PI4P 代謝に関与する因子が同定された。このことはゴルジ体ストレスによる細胞死誘導に TGN での PI4P 代謝が関わっていることを示す。

本研究ではゴルジ体ストレス時に TGN での PI4P 代謝が異常になるとゴルジ体の機能にどのような変化が起こるのかを調べた。シスゴルジのタンパク質 GM130 と TGN のタンパク質 TGN46 の分子量を調べたところ、OSW-1 処理によって TGN46 のみ分子量が顕著に減少した。細胞抽出液を用いた *in vitro* の実験系で TGN46 に付加されるシアル酸を酵素処理で除去すると、無処理の細胞では分子量が低下したが OSW-1 処理細胞では分子量変化が見られなかった。このことは TGN でのシアル酸修飾がゴルジ体ストレス時に起こらなくなっていることを示す。また酵素処理で TGN46 の糖鎖をすべて除去すると、無処理の細胞に比べて OSW-1 処理細胞では更に分子量が低下したことから糖鎖修飾以外の翻訳後修飾も起こらなくなっていることがわかった。以上の知見から、ゴルジ体ストレス時に TGN の PI4P 代謝が異常になると糖鎖修飾などの翻訳後修飾機能が失われることが明らかとなった。

細胞外小胞マーカー、CD63 の輸送に関与する ArfGAP の機能解析

* 鈴木 花純 (岩手大学 総合科学研究科 理工学専攻 生命科学コース 細胞内輸送研究室), 大川 義敬 (岩手大学 総合科学研究科 理工学専攻 生命科学コース 細胞内輸送研究室), 前田 昂樹 (弘前大学 農学生命科学部 分子生命科学科), 和栗 聡 (福島県立医科大学 医学部 解剖・組織学講座), 森田 英嗣 (弘前大学 農学生命科学部 分子生命科学科), 芝 陽子 (岩手大学 総合科学研究科 理工学専攻 生命科学コース 細胞内輸送研究室)
キーワード: ArfGAP, Cargo sorting, Exosome, CD63, MCF7

細胞内には様々な細胞内小器官が存在し、その間を輸送小胞によってタンパク質や脂質が輸送されている。細胞内輸送において低分子量 G タンパク質 Arf が重要な働きをする。私たちは Arf-GTP を加水分解して GDP 型へ変換する ArfGAP タンパク質群が、輸送小胞における積荷の選別に重要であると報告してきた。細胞外小胞は内部に核酸やタンパク質を含み、細胞間のコミュニケーションに重要な働きを示すと知られている。エクソソームは EVs の 1 つであり、MVBs において、エンドソーム膜が貫入して形成される ILVs が細胞外へ分泌されることで、エクソソームとなる。ILV 形成時に積荷が詰め込まれると考えられるが、どのように選別されるのかは詳しく分かっていない。本研究では、ArfGAP が MVBs において、ILV 形成時の積荷の選別に関わるのかを解明するため、CD63 を積荷として用い、ArfGAP のスクリーニングを行った。MCF7 細胞へ全 ArfGAP の siRNA を導入し、エンドソーム膜を GFP-Rab5QL で標識後、CD63 が Rab5 内へ局在しないエンドソームの割合を定量したところ、GIT1、ARAP1、ADAP1 の siRNA で CD63 の Rab5 内への局在が減少することが分かった。現在は 3 種類の ArfGAP を欠損した細胞で、エクソソームの分泌量に影響を与えるのかを調べるため、CD63-HiBiT を導入した MCF7 細胞からのエクソソームの分泌量をルシフェラーゼ活性の検出によって測定している。またの 3 種類の ArfGAP の欠損は、CD63 同様エクソソームの積荷である CD9 と積荷ではない EGF の局在に影響を与えるのか、ILV に輸送されなかった CD63 がどこに局在するのかをリソソームマーカー LAMP1、ゴルジ体マーカー Giantin で調べている。さらに ILV の形成そのものは阻害されていないか、CLEM で調べている。

Reticulon2B/Spg12-Spastin/Spg4 の相互作用機序の解析

* 鶴若祐太 (名古屋大学大学院医学系研究科), 野澤彰 (愛媛大学 プロテオサイエンスセンター 無細胞生命科学部門), 澤崎達也 (愛媛大学 プロテオサイエンスセンター 無細胞生命科学部門), 亀高論 (名古屋大学大学院医学系研究科)
キーワード: 小胞体, 近接依存性ビオチン標識法, 遺伝性痙性対麻痺

遺伝性痙性対麻痺 (Hereditary Spastic Paraplegia: HSP) は下肢の痙縮と筋力低下を主徴とする神経変性疾患であり、原因遺伝子として 70 を超える SPG 遺伝子が同定されている。これらの遺伝子の産物の多くは様々な細胞内小器官に局在し、小胞輸送など膜交通の制御に関わることが分かりつつあるが、これらの分子の機能の詳細と HSP 発症の分子機序は未だ不明な点が多い。SPG 遺伝子の一つである SPG12/Reticulon2B は Reticulon ファミリーに属する小胞体膜蛋白質をコードしており、Spg12/Reticulon2B は Reticulon Homology Domain: RHD を介して小胞体の膜上に局在するとともに小胞体の膜構造形成や神経細胞における軸索輸送などに関わることが報告されている。

我々は筋芽細胞の筋分化過程において SPG12 の発現が誘導されること、また同様に筋分化過程で発現が上昇する一群の小胞体局在型 Spg 産物 (Atlastin-1/Spg3A, Spastin/Spg4, REEP1/Spg31, REEP2/Spg72) らと相互作用しうることを VIP assay (Visual Immuno-precipitation) により報告してきた。さらに生体中での相互作用について検討する目的で、ビオチン化酵素を用いた近接依存性ビオチン標識法 (AirID 法) を用いた解析をおこなったところ、Reticulon2B/Spg12 と上記の小胞体局在型 Spg 分子がいずれも細胞内で近接しうることが示唆された。また、昨年までの本大会において、Reticulon2B/Spg12 の N 末端領域がミリスチル化され膜に結合することを示したが、ミリスチル化されず N 末端が膜から遊離すると考えられる Reticulon2B-G2A 変異体は Spastin/Spg4 との相互作用が減弱する一方で他の小胞体型 Spgs との相互作用には変化が見られなかった。これらの結果より Reticulon2B/Spg12-Spastin/Spg4 間の相互作用には Reticulon2B/Spg12 の N 末端領域の構造が特異的に関与していることが示唆される。

低分子量 G タンパク質 ARL15 のパルミトイル化修飾と膜局在化に関する解析

* 芦 優輝 (明治薬科大学・生化学), 茅野 剛史 (明治薬科大学・生化学), 荒木 信 (明治薬科大学・生化学), 紺谷 圏二 (明治薬科大学・生化学)

キーワード: 低分子量 G タンパク質, パルミトイル化, ARL15, DHHC, CNNM

ARF/ARL ファミリーに属する低分子量 G タンパク質 ARL15 は、各種の GWAS 解析から II 型糖尿病などに関与することが指摘されており、最近では Mg²⁺ トランスポーターである CNNM タンパク質と相互作用することが報告されている。また、ARL15 はパルミトイル化を介して細胞膜やトランスゴルジ網に局在すると考えられているが、その詳細は不明である。今回我々は、ARL15 のパルミトイル化修飾と膜局在化に関する解析を行い、ある種の DHHC ファミリー分子がそれらに寄与することを見出したので報告する。

まず APEGS アッセイにより ARL15 のパルミトイル化について解析したところ、ヒト ARL15 の 17、22、23 番目のシステイン残基が全てパルミトイル化されていることを示唆する結果が得られた。また、17 もしくは 22 番目のシステイン残基をセリン残基に置換した変異体では、パルミトイル化修飾が全く起こらないことも明らかとなった。さらに、ARL15 野生型の大部分が膜画分に存在したのに対し、パルミトイル化修飾を受けない ARL15 変異体では、殆どが細胞質に存在した。

タンパク質のパルミトイル化は、膜貫通型酵素である DHHC ファミリー分子群によって触媒され、ヒトでは 23 種が存在する。そこで ARL15 のパルミトイル化に関する DHHC 分子の探索を行ったところ、DHHC7 や DHHC3 を RNAi でノックダウンした細胞では、ARL15 のパルミトイル化が減弱することを見出した。さらに、DHHC7 をノックアウトした細胞では、ARL15 のパルミトイル化が減弱すると共に、細胞質に遊離する ARL15 の割合が上昇した。以上により、ARL15 は主に 3 カ所のシステイン残基がパルミトイル化された状態で膜に存在し、そのパルミトイル化には DHHC7 や DHHC3 が関与すると考えられた。

Single cell RNA-Seq 解析による円錐角膜患者の発現変動遺伝子に基づく治療薬候補の探索

* 今井 康太 (同志社大学大学院 生命医科学研究科), 奥村 直毅 (同志社大学大学院 生命医科学研究科), 中川 達也 (同志社大学大学院 生命医科学研究科), 小泉 範子 (同志社大学大学院 生命医科学研究科)

キーワード: 眼, 角膜, 円錐角膜, RNA-Seq, Drug repositioning

【目的】円錐角膜は、角膜の非薄化と突出を臨床的特徴とする進行性の眼疾患であり、薬物治療は存在しない。本研究では、single cell RNA-Seq (scRNA-Seq) により円錐角膜患者の角膜における発現変動する遺伝子を同定し、治療薬候補をソフトウェア上で検討した。

【方法】次世代シーケンスデータベースより円錐角膜患者由来の角膜の scRNA-Seq データ (GSE155683) を取得した。クラスタリング結果を UMAP により二次元上にプロットした。角膜上皮と角膜実質において円錐角膜患者において発現変動する遺伝子 (DEGs) を同定し、Gene Ontology (GO) 解析を行なった。また、L1000FWD、L1000CDS²、SigCom LINCS を用いて、DEGs を正常化する方向に作用する薬剤群をソフトウェア上で検討した。

【結果】UMAP において角膜組織由来の細胞は 4 つのグループにクラスタリングされた。マーカーとなる遺伝子の発現を参照して角膜上皮と角膜実質のクラスターを推定した。角膜上皮と角膜実質における DEGs をそれぞれ 984 個、456 個同定した (P value < 0.05 、 $|\text{Log}_2 \text{Fold Change}| \geq 0.25$)。さらに、GO 解析により、角膜上皮においては、GTPase 活性の調節や細胞形態形成の調節に関与する遺伝子が、角膜実質においては、MHC タンパク質複合体の形成や細胞接着の正の調節に関与する遺伝子の発現が円錐角膜において異なることが示された。また、ソフトウェアにより、角膜上皮と角膜実質においてそれぞれ 6 個の薬剤が DEGs を正常化する方向に作用する薬剤として選択された。

【結論】scRNA-Seq とソフトウェアにより、円錐角膜における新規治療薬候補を探索できる可能性がある。

三次元人工モルフォゲンモデルによる細胞自律的なパターン構築原理の解明

* 水野 皓介 (金沢大学新学術創成研究科 | ナノ生命科学研究所), 戸田 聡 (ナノ生命科学研究所)

キーワード: 合成生物学, モルフォゲン, 細胞接着, パターン形成

多細胞生物において、細胞間コミュニケーションは複雑な器官や組織の構築・維持・再生に必須である。特に発生過程では、“モルフォゲン”と呼ばれる拡散性シグナル分子を介した細胞間コミュニケーションが重要な役割を果たすことが知られている。

しかしながら、モルフォゲンが細胞集団のふるまいをどのように変化させて正確な分化パターンを作り上げているのか、その基本的な仕組みについては明らかにされていない。また、モルフォゲンは、細胞に様々な変化（増殖、分化、形態変化など）を与えるため、この複雑な制御系の中から多細胞パターンを決める要素のみを切り離して解析することは困難である。

そこで我々は、培養細胞を用いて、三次元人工モルフォゲンモデルを構築した。このモデルでは、生体機能に影響のない緑色蛍光タンパク質 GFP を介した細胞間コミュニケーションによって、自由に遺伝子誘導ができる。具体的には、培養液中を拡散して細胞表面に結合した GFP を人工受容体 synthetic Notch Receptor (synNotch) が認識する仕組みを使って、細胞に遺伝子発現や運命決定を誘導した。そして、GFP 分泌細胞と受容細胞を 3 次元培養し、解析を行ったところ、モルフォゲン拡散と細胞接着分子誘導の組み合わせがドメイン様のパターンを誘導することがわかった。さらに、パターン形成機構について解析を進めた結果、細胞接着分子の発現量に関係なく、一定量以上の接着分子を発現した細胞は互いに相互作用し、一つの頑強な凝集体を作れることを明らかにした。

本発表では、人工受容体を使ったモデル構築からドメイン様パターンを作るための接着分子の役割まで一連の研究成果について報告する。

エクソソーム模倣小胞 MNV の膜タンパク質組成とそのドラッグデリバリーへの応用

* 川口万太郎 (東京工業大学・生命理工学院生命理工学系 | 東京大学・先端科学技術研究センター), 星野歩子 (東京大学・先端科学技術研究センター)

キーワード: エクソソーム, 細胞外小胞, 人工小胞, テトラスパンニン, ドラッグデリバリー

細胞外小胞の一種であるエクソソームは、ドラッグデリバリーなど医療応用に向けた研究が盛んに行われている一方、その収率の低さが大きな課題の一つとして残る。MNV (Mimetic Nano Vesicle) は、細胞を微小孔の空いたメンブレンに繰り返し通過させることによって得られる、エクソソームと同程度の粒径をもつ人工小胞である。収率はエクソソームの数倍~数百倍程度と高く、収率の課題を克服するエクソソームの代替物質として期待される。本研究ではヒト臍帯由来間葉系幹細胞から MNV を生成し、その表在タンパク質と生体内における取り込みを確認した。

表在タンパクの解析では、細胞膜由来である MNV の膜にどれだけの多様性があるのか、またエクソソームと比較してどのような違いがあるのかを解明することを目指した。ELISA と同様の原理で小胞の持つ膜タンパク質を検出する機器 ExoView を用いてエクソソームマーカーとして代表的な CD9、CD63、CD81 を検出したところ、MNV 表面における発現割合がエクソソームに比べて顕著に低いことが示された。MNV における表在タンパクを同様の手法で確認した先行研究はなく、MNV の単粒子的な解析という新規性も備えた結果である。

また、ドラッグデリバリーなどに際し、MNV が体内でどの臓器に取り込まれるのかの理解は必須である。蛍光標識した MNV をマウスに投与したところ、肝臓への顕著な取り込みとそれに対するマクロファージの寄与が示唆された。この結果はエクソソームにおける取り込み機構と類似しており、この経路がエクソソームに特異的でない可能性が示された。また、肝臓以外に肺や脾臓、腎臓への MNV の取り込みも確認することができた。

本研究では *in vitro* 及び *in vivo* の両面から MNV を解析することで、臓器への取り込みという臨床応用に直結する結果のみならず、その膜組成と多様性に迫る結果をも得ることができた。これらを相互に連携・発展させることにより、MNV への深い理解に基づいた研究の発展を目指していく所存である。

機能性有機ナノシリカ粒子を用いたマルチモダルイメージングの試み

* 春田 知洋 (日本電子株式会社), 中村 教泰 (山口大学大学院医学研究科)

キーワード: マルチモダルイメージング, 電子顕微鏡, 元素分析, μ CT, 有機シリカナノ粒子

有機シリカナノ粒子 (SiNP) は、合成の過程において任意の蛍光色素の導入、金属粒子の付加、また任意の薬品による表面修飾など、非常に自由度の高いカスタマイズが可能である。我々は、この SiNP に蛍光色素と重金属として金ナノ粒子を付加させた粒子を作製し、この粒子が光 - 電子相関顕微鏡法 (CLEM) で利用できることを示した。このように観察に利用する機器に合わせた粒子を作製することにより複数の装置で同じ試料の観察を行うマルチモダルイメージングに利用できることが期待される。

CLEM 用に作製した重金属 (金) を付加した蛍光ナノ粒子を用いて光学顕微鏡観察、電子顕微鏡観察に加え、X 線マイクロ CT 装置 (μ CT) を含めたマルチモダルイメージングを試みた。本実験では、金粒子を付加した SiNP をマウスに静脈注射した後、摘出した脾臓を観察試料とした。SiNP は、マクロファージに取り込まれ、脾臓に集まるため、その局在を可視化できる。この試料を光学顕微鏡、 μ CT、SEM による観察を行った結果、光顕と電顕による CLEM 観察では $1 \mu\text{g/ml}$ の SiNP を注射することで十分に観察でき、 μ CT では、 $5 \mu\text{g/ml}$ 以上の濃度が必要であった。

続いて金粒子を付加した緑色蛍光色素を含む SiNP と酸化鉄粒子を導入した赤色蛍光色素を含む SiNP を作製し、光顕観察、電顕観察に加え、SEM による EDS 分析を含めたマルチカラー CLEM を試みた。本実験ではそれぞれの粒子を培養細胞に取り込ませ共培養したものを試料とした。その結果、緑色蛍光が検出される細胞には金が、赤色蛍光が検出される細胞には鉄がそれぞれ EDS マッピングにより検出され、蛍光の局在と元素の局在に相関が得られた。このようにナノ粒子に取り込ませる蛍光色素と金属を組み合わせることによって CLEM のマルチカラー化に成功した。

ゼノフリー条件における外毛根鞘由来上皮系細胞からの hiPSC 作製

* 久下 貴之 (ポーラ化成工業株式会社), 岩永 知幸 (ポーラ化成工業株式会社)

キーワード: iPS 細胞, 再生医療, ケラチノサイト, ゼノフリー

ヒト人工多能性幹細胞 (hiPSC) は主に皮膚線維芽細胞および造血系細胞から作製されてきたが、近年では毛髪に由来する上皮系細胞からの作製法が注目されている。これらの細胞は侵襲性を抑えて取得できるだけでなく、初期化効率および初期化速度に優れ、hiPSC の細胞原として有用と考えられている。また、再生医療分野で hiPSC を活用するためには、ウイルス汚染および免疫原性等の安全面で問題がなく、品質安定性の高い細胞製造技術を構築することが重要である。本研究では、hiPSC の樹立・培養過程において異種生物由来原料を一切使用しないゼノフリー条件で、簡便に採取できる毛髪試料から hiPSC を作製する技術を開発した。

社内の被験者保護委員会が定める倫理規定に従ってインフォームドコンセントを取得し、被験者から外毛根鞘が付着した髪の毛をピンセットで抜き取った。抜き取った毛を iMatrix-511 でコーティングした 24well プレートに移し、接着培養した。約 2 週間でバルジ領域周辺の外毛根鞘から細胞が増殖した。一継代後に、OCT3/4, SOX2, LIN28, KLF4, L-MYC および mouse p53DD 遺伝子を搭載したエピソーマルベクターを導入し、翌日から iPSC 培養用の培地に切り替えた。形質転換 18 日後に典型的な hiPSC 様のコロニーをピックアップした。hiPSC マーカー遺伝子である OCT4, SOX2, NANOG および TRA1-81 の陽性ならびに三胚葉分化能を確認した。

本技術は hiPSC を臨床応用するための橋渡し研究として、再生医療研究の発展に貢献できると考える。

サブミクロン赤外分光分析を用いた細胞への応用

* 小林華栄 (株式会社日本サーマル・コンサルティング), 清水夕美子 (株式会社日本サーマル・コンサルティング)

キーワード: 赤外分光分析, O-PTIR, サブミクロン空間分解能, 微小構造解析, 顕微

<概要>

赤外分析法はタンパク質の二次構造および水素結合性評価等が可能であり, 生体材料の組成・構造解析に有用な手法である. しかし従来の顕微赤外法 (顕微 FT-IR) の空間分解能には制限があり (約 3 ~ 10 μm), 微小部の分析が困難である場合があった. 10 年程前に登場した AFM-IR はナノスケールの空間分解能を有するが, 試料を薄片化や平滑性が必要, 液体が含まれると測定困難等の制限があり, 測定対象が限られるという難点があった.

近年, 光熱変換現象を利用した手法で, 可視レーザーをプローブとして用いるオプティカル光熱変換赤外分光法 (O-PTIR Optical photothermal infrared spectroscopy) が開発された^{<1>}. O-PTIR は, 赤外レーザー照射によって起こる試料表面の光熱変換現象 (熱膨張や温度変化) を介して試料の赤外吸収を検出する. 空間分解能は約 500 nm であり, 10 ミクロン四方から約 8 センチ四方までの幅広いスケールで分析が可能である. 非接触の反射測定で, 得られるスペクトルは従来の FT-IR と非常によく一致する. 測定時間は約 1 秒である. また試料薄片化が不要, 水中試料も測定可, 蛍光顕微鏡と組み合わせることも可能で, 細胞内部の成分分析や構造イメージングに汎用されてきている^{<2>}.

今回我々は玉ねぎ薄皮細胞の構造分布可視化を試みた. その結果をご紹介します.

<参考文献>

< 1 >, Kansiz, M., et al., Microscopy Today, 28 (3), 26-36 (2020).

< 2 >, Klementieva, O., et al., Adv. Sci., 7 (6), 1903004 (2020).

近赤外蛍光タンパク質 (iRFP) を用いた細胞周期を可視化するバイオセンサーの開発

* 西坂 有紗 (京都大学大学院生命科学研究科 生体制御学), 待永 明仁 (エーザイ株式会社筑波研究所 OBG メディスキリエーション筑波研究所), 垣内 伸之 (京都大学大学院医学研究科 腫瘍生物学 | 京都大学高等研究院 ヒト生物学高等研究拠点), 小川 誠司 (京都大学大学院医学研究科 腫瘍生物学 | 京都大学高等研究院 ヒト生物学高等研究拠点 | Department of Medicine Center for Hematology and Regenerative Medicine Karolinska Institute Sweden), 妹尾 浩 (京都大学大学院医学研究科 消化器内科学), 東山 繁樹 (大阪国際がんセンター研究所 腫瘍増殖制御学部), 松田 道行 (京都大学大学院生命科学研究科 生体制御学 | 京都大学大学院医学研究科 病態生物医学), 平塚 徹 (大阪国際がんセンター研究所 腫瘍増殖制御学部)

キーワード: iRFP, Fucci, 細胞周期, オルガノイド

光学顕微鏡による深部組織観察を妨げているものは, 波長に逆相関する Rayleigh 散乱と 600nm 以下の波長で顕著なヘモグロビンによる吸収である. そのため, 700nm 前後の蛍光を発する近赤外蛍光タンパク質 (iRFP) は深部組織観察に理想的である. しかし, iRFP は発色団としてビリベルジンを要求することから十分な蛍光が得られないことが多いという弱点も有する. 本研究では細胞周期センサー Fucci に iRFP を搭載し, オルガノイドや生きた組織内でがん細胞の細胞周期を可視化することを目的とした.

赤～近赤外光での細胞周期観察を行うため, iRFP と赤色蛍光タンパク質 Azalea を搭載した AiR-Fucci をコードするバイオセンサー発現プラスミドを作製した. 次に, 細胞内ビリベルジンの量を増やすために, ビリベルジン還元酵素をノックアウトした HeLa 細胞を準備した. この細胞に AiR-Fucci を導入し, 共焦点顕微鏡で観察して, 細胞周期が観察できることを確認した. 次に, ヒト患者由来膵臓がんオルガノイドに AiR-Fucci をレンチウイルスベクターにより導入し, マトリゲル内で 4 次元細胞周期観察が可能であることを確認できた. 今後は, オルガノイド成長過程における単一細胞からの系統樹の作成を試みる. さらに, 生きたマウスの膵臓にオルガノイドを移植して多光子顕微鏡下で観察することでがんの浸潤と細胞周期との関連の解明や抗がん剤の影響の観察を目指す.

マイクロウェルを用いたシングルセルイメージングによる急性骨髄性白血病細胞の薬剤応答解析

* 新倉 竜太 (東京大学大学院 薬学系研究科 生理化学教室), 山本 昌平 (東京大学大学院 薬学系研究科 生理化学教室), 藪下 知宏 (東京大学薬学部分子腫瘍薬学社会連携講座), 鈴木 宏明 (中央大学 理工学部 精密機械工学科), 合山 進 (東京大学大学院 新領域創成科学研究科 メディカル情報生命専攻 先進分子腫瘍学分野), 北村 俊雄 (東京大学薬学部分子腫瘍薬学社会連携講座), 知念 拓実 (東京大学大学院 薬学系研究科 生理化学教室), 北川 大樹 (東京大学大学院 薬学系研究科 生理化学教室)

キーワード: ライブイメージング, アポトーシス, 白血病, がん, シングルセル

【背景・目的】

白血病は、血液細胞の分化過程で異常な細胞が増えることによって発症する疾患であり、その治療には主に抗がん剤を用いた化学療法が行われている。しかし、それらの治療薬が効果を発揮してアポトーシスを誘起するメカニズムや、そのタイミングに関しては未知の部分がある。その理由として、白血病細胞において有効なライブセルイメージングの手法が確立されていないことが挙げられる。

固形がん由来の接着性のがん細胞株とは異なり、白血病細胞株の多くは浮遊した状態で増殖する。そのため、特定の細胞の細胞周期を長時間にわたって観察することが困難である。そこで本研究では、マイクロウェル (MW) を用いたシングルセルイメージング法を確立して、急性骨髄性白血病 (AML) の治療薬として期待される薬剤の作用機序解析を目的とした。

【方法】

複数の合成樹脂を用いて直径が 50 または 100 μm の MW を作製した。作成した MW に複数のブロッキング処理を施して、MW に対する様々な細胞染色用蛍光プローブの非特異的吸着を低減する条件を検討した。さらに、最適化したライブイメージングシステムを用いて、薬剤処理時の AML 細胞株の薬剤応答を観察した。

【結果】

MW を用いたライブイメージングの結果、浮遊細胞を用いる上で問題となる、細胞の視野外への移動を抑制し、長時間のライブセルイメージングに成功した。また、様々な樹脂やブロッキング剤を比較した結果、MW への細胞染色用蛍光プローブの非特異的吸着を最も低減できる条件を見いだした。これにより、アポトーシスのタイミングや細胞構成因子を高感度で可視化することが可能になった。また、単一細胞を長期にイメージングすることで、これまでに明らかとなっていなかった薬剤応答の観察が可能となった。

本会において、最適化したイメージングシステムと薬剤応答解析の詳細を報告する。

Split 蛍光タンパク質を用いた多重蛍光ラベル技術

* 石井 衛 (京都大学大学院 生命科学系研究科 生体制御学分野), 金城 智章 (ノースカロライナ大学チャペルヒル校 生化学・生物物理学部), 寺井 健太 (京都大学大学院 医学研究科 病態生物医学), 松田 道行 (京都大学大学院 生命科学系研究科 生体制御学分野 | 京都大学大学院 医学研究科 病態生物医学)

キーワード: 細胞蛍光ラベル, Split 蛍光タンパク質, EGF シグナル

蛍光顕微鏡を用いる研究においては形態のみでは区別できない細胞種の識別は重要な開発課題である。形態による識別が困難な異なる細胞種は、多色の蛍光タンパク質 (FP) で標識することが可能である。しかしながら、同時観察可能な FP は数種類に限られるため、10 種類を超える細胞種を識別には新規技術が必要である。本研究では、FP の蛍光強度を変調させることで細胞識別する技術を開発する。蛍光強度変調を実現するために、Split FP (sFP) に注目した。本来、FP の多くは 11 本の β シートから構成される。sFP とは、1- β -10 番目の β シート (FP1-10) と 11 番目の β シート (FP11) を個別に発現させることにより、細胞内で自己会合して発色団を形成することができる。すなわち、FP1-10 過剰発現細胞では FP11 タンデム遺伝子を導入し、標準蛍光タンパク質との比率をとることで蛍光強度変調が可能となる。これにより、細胞標識に必要な導入遺伝子長を大幅に短縮できる。これまでに FP11 の繰り返しにより蛍光強度を増大させる蛍光プローブの作製に取り組んでいる。初めに、既報の sFPの中から、sCFP2, mNeonGreen3A, sfCherry3C を選定した。続いて、FP11 の繰り返し配列単独では sFP が十分な蛍光強度を示さず、ヒストン 2B (H2B) を FP11 に融合させることで sFP を高輝度化した。更に、会合効率の低さが問題である sfCherry3C に、タンパク質モデリングに基いた変異を導入し、5 倍明るい sfCherry4 を作製した。そして、3 種それぞれの FP11 繰り返し配列間のリンカーを最適化し、繰り返回数依存的な蛍光輝度値増加に成功した。最後に、この蛍光プローブを恒常的に発現する細胞を樹立した。sCFP2, sfCherry4, mNeonGreen3A の三種の sFP に対して、最適化された FP11 の繰り返し配列を用いると、蛍光強度が増大し、輝度値による細胞識別が可能である。ポスター発表では、蛍光プローブ開発の詳細や細胞識別技術の生物応用も含めて議論したい。

16:00-17:30 (2023-06-29 16:00 - 17:30 | ポスター会場)

P - D2 - P001 - 079

膨張顕微鏡法による一次繊毛の超解像イメージング：ProExM と U-ExM の比較および抗体適用性の評価

* 加藤 洋平 (京都大学大学院薬学研究所生体情報制御学分野), 里田 裕紀 (京都大学大学院薬学研究所生体情報制御学分野), 田崎 晃司 (京都大学大学院薬学研究所生体情報制御学分野), 千葉 秀平 (東北大学大学院生命科学研究所分子細胞生物分野), 中山 和久 (京都大学大学院薬学研究所生体情報制御学分野)

キーワード：超解像顕微鏡, 膨張顕微鏡法, 一次繊毛, Expansion microscopy, Super-resolution microscopy

膨張顕微鏡法 (Expansion microscopy: ExM) は高吸水性ゲルを用いて生物試料を物理的に拡大することで超解像イメージングを可能にする技術である。2015年に Boyden らが発表して以降、ExM はラベル化方法や架橋法の見直しによるシグナル改善や非等方的な膨張の発生を抑えるための工夫が行われている。本研究では、代表的な膨張法である Protein-retention ExM (ProExM) と Ultrastructure ExM (U-ExM) を比較し、一次繊毛の超解像観察に最適な手法の特定を目的とした。

ProExM と U-ExM ではゲルの膨張に必要なタンパク質変性の方法が異なる。ProExM は免疫染色後にプロテアーゼ処理を行いタンパク質の部分的な分解を行うのに対し、U-ExM は SDS バッファー中でタンパク質を熱変性させてから免疫染色を行う。そのため、ProExM とは異なり、U-ExM では変性タンパク質を認識できる抗体が必要となる。

一次繊毛のマーカータンパク質 (アセチル化チューブリン、IFT88、CEP164) の抗体を用いて両手法を比較した。U-ExM では繊毛基部における IFT88 と CEP164 の 9 回対称構造が明瞭に観察できたが、ProExM では困難だった。この結果から、U-ExM が ProExM よりも一次繊毛の観察に適していることが判明した。次に様々な抗体の U-ExM への適用性について検証した。その結果、ウサギのポリクローナル抗体が U-ExM に適用可能であることが多い一方、マウスのモノクローナル抗体は適用できない場合が多いことがわかった。また、ニワトリのポリクローナル GFP 抗体が使用可能であることが判明し、多重染色に利用できることもわかった。以上の結果から、一次繊毛研究において U-ExM が有益な手法であり、適切な抗体選択が重要であると考えられる。

16:00-17:30 (2023-06-29 16:00 - 17:30 | ポスター会場)

P - D2 - P001 - 080

Opto-Droplet による細胞機能操作法の開発

* 後藤 祐平 (基礎生物学研究所 定量生物学研究部門 | 生命創成探究センター 定量生物学研究グループ | 総合研究大学院大学 生命科学専攻科 基礎生物学専攻), 青木 一洋 (基礎生物学研究所 定量生物学研究部門 | 生命創成探究センター 定量生物学研究グループ | 総合研究大学院大学 生命科学専攻科 基礎生物学専攻)

キーワード：光遺伝学, 酵母, Optogenetics, 液液相分離

光遺伝学による細胞機能操作は近年注目を集めており、高い時空間解像度で細胞内の様々なタンパク質機能を操作できるポテンシャルを秘めている。中でも、光依存的な液滴形成 (Opto-Droplet) は、光照射により細胞内に液液相分離による液滴を形成し、一過的な反応場の形成や、特定のタンパク質の隔離など様々な細胞内機能操作に応用可能であると考えられる。そこで我々は、Opto-Droplet の細胞内での性質を調べるところから始め、内在性遺伝子の機能制御を目指して研究を進めている。まず、我々が開発した恒常発現プロモータシリーズを用いて、Opto-Droplet の濃度依存性を定量的に評価した。その結果、Opto-Droplet に付与する Oligomer Domain の種類によって液滴形成や凝集に対する濃度依存性が変わることを見出した。次に、高発現している Opto-Droplet に内在性のタンパク質を光依存的に呼び込むことで、そのタンパク質を隔離し機能を阻害できるかを検証した。いくつかの細胞周期関連遺伝子について光依存的に機能を阻害し、細胞の生育を抑制することに成功した。本年会では、2色の光を用いて独立に Opto-Droplet を操作する系やその応用法について発表し議論したい。

16:00-17:30 (2023-06-29 16:00 - 17:30 | ポスター会場)

P - D2 - P001 - 081

反応漏れの無い光・化合物遺伝学的タンパク質制御技術の開発

* 河野 風雲 (東京大学 大学院総合文化研究科), 佐藤 守俊 (東京大学 大学院総合文化研究科)

キーワード: 化学遺伝学, 光遺伝学, Cre-loxP 遺伝子組換え

化合物や光で遺伝子組換えを誘導できる条件付きの誘導型遺伝子組換え系は、高い誘導効率と特異性を持つ技術的頑強性で条件付きの遺伝子組換えを実現してきた。しかしながらそうした組換え系は、化合物や光で遺伝子組換えを誘導する前に組換え反応が起きてしまう反応漏れが共通の課題として残されている。本研究では、当該問題を克服するために、トリメトプリム依存的にタンパク質分解が抑制される大腸菌ジヒドロ葉酸還元酵素由来のコピキチン化タンパク質構造不安定化ドメインと自己会合型の分割体タンパク質近接相補化再構成法を組み合わせた SPEED (split-protein-based efficient and enhanced degradation) 法を開発した。本 SPEED 法を Cre-loxP 遺伝子組換え系に応用することによって、極めて厳密に反応漏れ問題を克服することに成功した。さらに、本 SPEED 法を光活性型の Cre 遺伝子組換え酵素と組み合わせることによって、光と化合物の二入力による論理回路型の Cre-loxP 遺伝子組換え技術の開発に成功した。本 SPEED 法は、哺乳類細胞において強力に頑強な化合物誘導型遺伝子組換え制御を実現するのみならず、タンパク質分解誘導が困難であった分子サイズの大きいタンパク質に対しても厳密な機能制御を実現する強力な化合物遺伝学として、生命科学における幅広い基盤技術になり得ることが期待される。また、本 SPEED 法と既存の光遺伝学技術と組み合わせた論理回路型の化合物・光遺伝学技術は、より厳密なタンパク質制御を実現する基盤技術になり得ることが期待される。

16:00-17:30 (2023-06-29 16:00 - 17:30 | ポスター会場)

P - D2 - P001 - 082

A customizable RNA-binding protein for live-imaging and manipulation of the dynamics of endogenous RNAs

* 高井 啓 (東大院・医・細胞生物 | 理研 BDR・細胞極性統御), 岡田 康志 (東大院・医・細胞生物 | 理研 BDR・細胞極性統御 | 東大院・理・物理)

キーワード: live imaging, RNA imaging, biotechnology

RNAs do not only serve as the blue print for the protein assembly, but also play wide variety of essential functions in cells. Thus, a genetically-encodable method to visualize and manipulate authentic RNAs in living cells would be beneficial for both basic and applied sciences. In this study, we report the development of designer RNA-binding protein (dRBP), which is customizable to bind to the RNA sequence of interest. By using an ELISA-like assay combined with our bright bioluminescent protein, Nano-lantern (Takai et al., PNAS 2015), we showed our dRBPs specifically bind to target RNAs with high affinity (1-10 nM). We also showed our dRBPs can be used for the visualization of endogenous RNAs including beta-actin mRNA or lncRNA Neat1_2 in living cells. Immunoprecipitation of the dRBPs followed by quantitative PCR analysis demonstrated that the target, endogenous beta-actin mRNA is specifically recognized in vivo. Furthermore, manipulation of the localization of the beta-actin mRNA using the dRBP fused to constitutively active kinesin resulted in the elongation of cellular processes. These data collectively suggests our dRBP would serve as a powerful tool for the imaging and manipulation of unmodified, endogenous RNAs in living cells.

16:00-17:30 (2023-06-29 16:00 - 17:30 | ポスター会場)

P - D2 - P001 - 083

細胞極性形成計測のための多焦点 FCS 法の開発

* 毛利 一成 (国立研究開発法人 情報通信研究機構), 松田 厚志 (国立研究開発法人 情報通信研究機構)

キーワード: 顕微鏡ライブイメージング, 蛍光相関分光法, 単細胞生物, 極性形成

細胞内の成分は均質に分布しておらず、何らかの偏りが生じることでその機能を果たしている。細胞分裂において、培養細胞など一見均等配分に見える細胞もあるが実際の生体内においては様々な細胞との相互作用により、分裂の方向が決まっていると考えられる。単細胞真核生物の多くは前後極性を持ち、細胞間相互作用に依存せずその内在的な極性に依存した細胞分裂を行う特異な生物であり、どのようなメカニズムで自律的な極性形成とその維持を行っているのか未解明である。我々は単細胞真核生物の繊毛虫テトラヒメナを用いて極性形成と維持機構を解明するためのライブイメージング法を開発してきた。浮遊・遊走し接合対形成を行う本細胞には特有の細胞生物学的なアプローチが必要となる。本発表では接合対形成の自動化技術、浮遊・遊走細胞のライブイメージング技術を基盤として細胞内分子流動を計測するための FCS 顕微鏡技術の開発について紹介する。

16:00-17:30 (2023-06-29 16:00 - 17:30 | ポスター会場)

P - D2 - P001 - 084

核内輸送因子 Importin α の熱安定性と核 - 細胞質間輸送機構の環境応答性

* 小川 泰 (理化学研究所 今本細胞核機能研究室), 今本 尚子 (理化学研究所 今本細胞核機能研究室)

キーワード: 核 - 細胞質間輸送, 熱ストレス, 核内輸送

細胞内に存在するタンパク質の性質はそれぞれ大きく異なる。特に、熱に対する感受性の違いは幅広く、100°Cでも変性しないタンパク質が存在する一方で、生理的な温度条件下でも機能を失うタンパク質も存在する。タンパク質の安定性は、周辺環境の変化に応答する上で非常に重要であるが、生細胞内でタンパク質の機能がどの程度維持され、どの程度失われているかについては、解析例が少なく知られていない。我々は、環境温度変化と核 - 細胞質間輸送機構の関係を探る過程で、核内輸送アダプター分子 Importin α の熱感受性が原因で、熱ストレス環境下で Importin α / β 依存的核内輸送経路が選択的に停止することを明らかにした。より詳細に調べると、7種類存在するヒト Importin α の内、3種類は生理的温度条件下においても変性し得るほど熱に感受性があることが分かった。一方で、細胞抽出液存在下では、これらの熱感受性 Importin α サブタイプの変性は大幅に抑制されたことから、細胞内には何らかの安定化機構が存在すると考えられる。しかも ATP に依存しないことから HSP70 などの分子シャペロン等に依存しない安定化機構の存在が示唆された。そこで、Importin α と相互作用するタンパク質を定量的プロテオミクス解析により同定し、Importin α の安定化に寄与するものを探索した。その結果、Importin α の品質維持には連続した輸送サイクルが大きく寄与していることが明らかになった。これらの結果は、熱ストレスだけでなく様々な環境変化や老化などのストレスによって変化する輸送制御機構の理解につながると期待される。

16:00-17:30 (2023-06-29 16:00 - 17:30 | ポスター会場)

P - D2 - P001 - 085

細胞内多重局在タンパク質 Hfd1 の細胞内局在における C 末端疎水性領域の役割

* 小西 雄大 (京都産業大学大学院 生命科学研究所), 阪上 春花 (京都産業大学 生命科学部), 竹田 弘法 (奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術), 遠藤 斗志也 (京都産業大学 生命科学部)

キーワード: ER, ミトコンドリア, 細胞内局在

ミトコンドリアは約 1000 種類のタンパク質から構成され、その約 99% のタンパク質が核ゲノムにコードされている。したがって、ミトコンドリアで働くタンパク質の大部分は、サイトゾルで合成された後に正しくミトコンドリアへ輸送される必要がある。このようなタンパク質の細胞内輸送は、ミトコンドリアに限らず、ER やペルオキシソームなどのオルガネラにおいても果たされるべき必須のプロセスである。タンパク質の輸送が正しく行われないと、細胞内の恒常性が破綻し、ヒトでは様々な疾患につながりうる。そのため、タンパク質の細胞内輸送は、複数の分子機構によって厳格に制御される必要があると考えられてきた。ところが最近、一つのタンパク質が複数のオルガネラに局在化する多重局在タンパク質が多数見つかった。この場合、局在化シグナルそのものが変化することで複数の局在を示すものの他に、局在化シグナルが同一であるにも関わらず複数のオルガネラに局在するものも知られている。後者の例では、C 末端に膜貫通領域を含む局在化シグナルを持つテールアンカー型膜タンパク質 (TA タンパク質) が良く調べられている。出芽酵母のアルデヒドデヒドロゲナーゼ Hfd1 は、細胞内で多重局在を示すことが報告されている。Hfd1 の局在は、ミトコンドリア外膜や脂肪滴、或いは ER など、複数の報告がある一方で、論文間で異なる結果が報告されており、局在化シグナルの実体も不明なままである。そこで本研究では、Hfd1 の N 末端に蛍光タンパク質を付加した融合タンパク質を酵母細胞内で発現させ、蛍光顕微鏡観察により Hfd1 の局在を再検討した。さらに、Hfd1 の膜貫通領域予測および構造予測から Hfd1 は C 末端に疎水性の α ヘリックス構造を持つことを見出し、C 末端疎水性領域が細胞内局在に与える影響を調べた。

2023年6月30日（金）

3日目

ポスター発表

ポスター発表 (3日目)

2023/6/30 14:45 ~ 16:15 | ポスター会場

シグナル伝達、免疫・感染、細胞骨格・運動、細胞接着・細胞外マトリクス

P - D3 - P001 - 001

患者由来 iPS 細胞を用いたアルツハイマー依存的神経新生不全モデルの構築と構築モデルを用いた神経新生不全回復薬の同定

* 中津大貴 (東京工業大学 科学技術創成研究院 細胞制御工学研究センター), 國重莉奈 (東京工業大学 科学技術創成研究院 細胞制御工学研究センター / マルチモーダル細胞解析協働研究拠点), 田口由起 (東京工業大学 科学技術創成研究院 細胞制御工学研究センター / マルチモーダル細胞解析協働研究拠点), 成川 - 篠崎苗子 (東京工業大学 科学技術創成研究院 細胞制御工学研究センター), 大坂企志子 (東京工業大学 科学技術創成研究院 細胞制御工学研究センター), 横溝佳代 (東京工業大学 科学技術創成研究院 細胞制御工学研究センター), 石田真美 (東京工業大学 科学技術創成研究院 細胞制御工学研究センター), 武居俊輔 (株式会社ニコン ヘルスケア事業部 技術統括部 システム開発部), 山崎聖子 (株式会社ニコン 研究開発本部 数理技術研究所), 萩屋啓太 (富士フイルム株式会社), 服部功太郎 (国立精神・神経医療研究センター メディカル・ゲノムセンター バイオリソース部), 塚本忠 (国立精神・神経医療研究センター 病院), 村田昌之 (東京工業大学 科学技術創成研究院 細胞制御工学研究センター / マルチモーダル細胞解析協働研究拠点), 加納ふみ (東京工業大学 科学技術創成研究院 細胞制御工学研究センター)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 002

カスパーゼは紡錘体チェックポイント構成因子 BubR1 を切断し, ショウジョウバエ個体の寿命を制限する

* 篠田 夏樹 (東京大学 大学院薬学系研究科), 堀越 水涼 (東京大学 大学院薬学系研究科), 平 雄介 (東京大学 大学院薬学系研究科), 平山 尚志郎 (東京大学 大学院薬学系研究科), 村田 茂穂 (東京大学 大学院薬学系研究科), 三浦 正幸 (東京大学 大学院薬学系研究科), 村本 雅哉 (東京大学 大学院薬学系研究科)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 003

統合的ストレス応答は腫瘍内不均一性を介したがん進展を駆動する

* 谷口 喜一郎 (京都大学生命科学研究科), 福本 果歩 (京都大学生命科学研究科), 小林 朋絵 (重井医学研究所分子遺伝部門), 松山 誠 (重井医学研究所分子遺伝部門), 大澤 志津江 (名古屋大学理学研究科), 井垣 達吏 (京都大学生命科学研究科)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 004

細胞競合における Ca^{2+} シグナルの *ex vivo* ライブイメージングによる時空間的解析

* 城戸明日香 (京都大学薬学部), 永田理奈 (京都大学生命科学研究科), 谷口喜一郎 (京都大学生命科学研究科), 井垣達吏 (京都大学薬学部 | 京都大学生命科学研究科)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 005

G2/M 期移行は CDK 活性の閾値によって規定される

* 杉山 博紀 (生命創成探究センター), 後藤 祐平 (総研大), 近藤 洋平 (総研大), 青木 一洋 (総研大)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 006

SR-12813 はスタチン誘発性 HMG-CoA 還元酵素タンパクを分解することでアトルバスタチンの制がん効果を高める

* 周 雅軒 (関西学院大学大学院 理工学研究科), 田代 二郎 (鳥取大学 農学部獣医解剖), 鎌谷 汐里 (鳥取大学 農学部獣医解剖), 入江 七海 (関西学院大学大学院 理工学研究科), 杉浦 曜大 (鳥取大学 農学部獣医解剖), 石川 拓郎 (愛知医科大学 医学部), Zoltán N. Oltvai (ロチェスター大学 医学部), 割田 克彦 (鳥取大学 農学部獣医解剖), 割田 友子 (関西学院大学 生命環境学部)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 007

The extracellular vesicles secreted from IRSp53-mediated membrane protrusions promote cancer cells proliferation via surface integrin and laminin

* Hu Hooi Ting (Nara Institute of Science and Technology), Tamako Nishimura (Nara Institute of Science and Technology), Shiro Suetsugu (Nara Institute of Science and Technology)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 008

Cyclin-dependent kinase inhibitors regulate the watershed between neural and glial lineage transition in the developing cortex

* Yoichi Kosodo (Korea Brain Research Institute), Wonyoung Lee (Korea Brain Research Institute)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 009

細胞競合を駆動する細胞非自律的オートファジーの誘導メカニズム

* 永田 理奈 (京都大学大学院生命科学研究科), 城戸 明日香 (京都大学薬学部), Lina Zang (Hong Kong University of Science and Technology, Division of Life Science), Ying Wang (Hong Kong University of Science and Technology, Division of Life Science), Mingxi Deng (Hong Kong University of Science and Technology, Division of Life Science), 近藤 周 (国立遺伝学研究所), 齋藤 邦暁 (国立遺伝学研究所), 松山 誠 (重井医学研究所分子遺伝部門), 小林 朋絵 (重井医学研究所分子遺伝部門), Yan Yan (Hong Kong University of Science and Technology, Division of Life Science), 井垣 達吏 (京都大学大学院生命科学研究科)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 010

オプトジェネティクスを用いた破骨細胞分化の光制御

* 高田 愛子 (東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 咬合機能矯正学分野), 石井 智浩 (東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 細胞生物学分野), 中浜 健一 (東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 分子細胞機能学分野), 浅野 豪文 (東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 細胞生物学分野), 小野 卓史 (東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 咬合機能矯正学分野), 中田 隆夫 (東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 細胞生物学分野)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 011

Src 誘導性のがん進展メカニズムの遺伝学的解析

* 小川 慶悟 (京都大学大学院 生命科学研究科), 榎本 将人 (京都大学大学院 生命科学研究科), 井垣 達吏 (京都大学大学院 生命科学研究科)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 012

細胞性粘菌の発生分化における高 ATP 細胞の挙動と役割

* 平岡 陽花 (阪大院・生命機能 | 名大院・理), Wang Jiewen (大阪公立大・情報), 中野 賢 (大阪公立大・情報), 平野 泰弘 (阪大院・生命機能), 山崎 真一 (阪大院・生命機能), 平岡 泰 (阪大院・生命機能), 原口 徳子 (阪大院・生命機能)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 013

出芽酵母の非分裂細胞におけるカロリー制限による寿命短縮効果の発見

* 尾崎 行憲 (京都大学大学院理学研究科生命科学研究科生命科学研究科環境応答遺伝子科学研究室)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 014

Zfp507 plays a role in regulating embryonic stem cell-derived insulin-producing beta cells differentiation and mice glucose homeostasis.

* Jin Hong Lee (School of Life Sciences, BK21 FOUR KNU Creative BioResearch Group, Kyungpook National University, Daegu 41566, Republic of Korea), Si Jun Park (Institute of Life Science and Biotechnology, Kyungpook National University), Myoung Ok Kim (Research Center for Horse Industry, Kyungpook National University, Sangju 37224, Republic of Korea), Zae Young Ryoo (School of Life Sciences, BK21 FOUR KNU Creative BioResearch Group, Kyungpook National University, Daegu 41566, Republic of Korea)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 015

モルフォゲン勾配の頑強性は細胞間張力を介した細胞競合により維持される

* 青木 佳南 (大阪大学 微生物病研究所 生体統御分野), 石谷 太 (大阪大学 微生物病研究所 生体統御分野)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 016

小型魚類を用いた脳老化・神経変性疾患の分子メカニズムの解析

* 山中 智行 (新潟大学 脳研究所), 松井 秀彰 (新潟大学 脳研究所)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 017

細胞競合の共通メカニズムと生理的トリガーの遺伝学的探索

* 松本涼 (京都大学大学院生命科学研究科), 菅田浩司 (京都大学大学院生命科学研究科), 川崎あや (京都大学大学院生命科学研究科), 中村麻衣 (京都大学大学院生命科学研究科), 永田理奈 (京都大学大学院生命科学研究科), 越智直孝 (京都大学大学院生命科学研究科), 黄新月 (京都大学大学院生命科学研究科), 奥村歩 (京都大学大学院生命科学研究科), 若狭直樹 (京都大学大学院生命科学研究科), 野口耀司 (京都大学大学院生命科学研究科), 中野吏洋助 (京都大学大学院生命科学研究科), 小林朋絵 (重井医学研究所分子遺伝部門), 松山誠 (重井医学研究所分子遺伝部門), 井垣達吏 (京都大学大学院生命科学研究科)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 018

GATA6 は LYPD1 遺伝子発現調節を介して抗血管新生作用を制御する

* 増田 信奈子 (東京女子医科大学先端生命医科学研究所), 松浦 勝久 (東京女子医科大学先端生命医科学研究所 | 東京女子医科大学循環器内科), 清水 達也 (東京女子医科大学先端生命医科学研究所)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 019

細胞数依存的な腫瘍増殖と細胞競合の運命制御

* 西山 真生 (京都大学大学院薬学研究科生理活性制御学分野), 菅田 浩司 (京都大学大学院薬学研究科生理活性制御学分野 | 京都大学大学院生命科学研究科システム機能学分野), 井垣 達吏 (京都大学大学院薬学研究科生理活性制御学分野 | 京都大学大学院生命科学研究科システム機能学分野)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 020

C2C12 筋管細胞への電気刺激によるアセチルコリン受容体発現誘導機構の解析

* 小林篤生 (医療法人友誼会西大和リハビリテーション病院リハビリテーション部), 針生祥平 (名古屋大学医学系研究科総合保健学専攻), 亀高論 (名古屋大学医学系研究科総合保健学専攻)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 021

Knockout of LETMD1 induces brain damage and neuroinflammation through ferroptosis.

* Jiwon Ko (School of Life Sciences, BK21 FOUR KNU Creative BioResearch Group, Kyungpook National University, Daegu 41566, Korea), Su-Geun Lim (School of Life Sciences, Kyungpook National University, Daegu 41566, Korea), Zae Young Ryoo (School of Life Sciences, BK21 FOUR KNU Creative BioResearch Group, Kyungpook National University, Daegu 41566, Korea)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 022

抗アンドロゲン薬エンザルタミドによるアンドロゲン受容体非依存的な乳がん増殖阻害現象

* 黒岩 由佳 (早稲田大学大学院 先進理工学研究科 生命医科学専攻), 中山 淳 (国立がん研究センター研究所 病態情報学ユニット), 仙波 憲太郎 (早稲田大学大学院 先進理工学研究科 生命医科学専攻), 山本 雄介 (国立がん研究センター研究所 病態情報学ユニット)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 023

KBG 症候群関連タンパク質 ANKRD11 は、タンパク質の翻訳効率を高めることで細胞増殖を促進する

* 指山 祥子 (山口東京理大薬), 中川 直 (山口東京理大薬 | 東北大院医), 野田 泰裕 (山口東京理大薬), 細井 徹 (山口東京理大薬)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 024

ヒストン脱アセチル化酵素 HDAC3 による神経突起制御

* 中川 直 (山口東京理科大学 | 東北大学大学院医学系研究科), 松原 永佳 (山口東京理科大学), 細井 徹 (山口東京理科大学)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 025

Treatment of lipolysis-stimulated lipoprotein receptor (LSR) antibody with HDAC inhibitors promotes apoptosis in human salivary duct adenocarcinoma

* Soshi Nishida (Department of Cell Science, Research Institute for Frontier Medicine, Sapporo Medical University School of Medicine, Sapporo 060-8556, Japan | Department of Otolaryngology, Sapporo Medical University School of Medicine, Sapporo 060-8556, Japan), Masaya Nakano (Department of Cell Science, Research Institute for Frontier Medicine, Sapporo Medical University School of Medicine, Sapporo 060-8556, Japan | Department of Otolaryngology, Sapporo Medical University School of Medicine, Sapporo 060-8556, Japan), Kizuku Ohwada (Department of Otolaryngology, Sapporo Medical University School of Medicine, Sapporo 060-8556, Japan), Takumi Konno (Department of Cell Science, Research Institute for Frontier Medicine, Sapporo Medical University School of Medicine, Sapporo 060-8556, Japan), Takayuki Kohno (Department of Cell Science, Research Institute for Frontier Medicine, Sapporo Medical University School of Medicine, Sapporo 060-8556, Japan), Akito Kakiuchi (Department of Otolaryngology, Sapporo Medical University School of Medicine, Sapporo 060-8556, Japan), Kazufumi Obata (Department of Otolaryngology, Sapporo Medical University School of Medicine, Sapporo 060-8556, Japan), Makoto Kurose (Department of Otolaryngology, Sapporo Medical University School of Medicine, Sapporo 060-8556, Japan), Kenichi Takano (Department of Otolaryngology, Sapporo Medical University School of Medicine, Sapporo 060-8556, Japan), Takashi Kojima (Department of Cell Science, Research Institute for Frontier Medicine, Sapporo Medical University School of Medicine, Sapporo 060-8556, Japan)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 026

肝臓由来細胞の多核化の長時間タイムラプス観察による解析

* 佐伯俊彦 (群馬大学大学院 理工学府分子科学部門), 木村春香 (群馬大学大学院 理工学研究科), 秋元太陽 (群馬大学理工学部)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 027

Role of phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate in cellular senescence of lung epithelial cells

* Imen Jebri (Tokyo University of Science), Rikuto Furuishi (Tokyo University of Science), Kaori Kanemaru (Tokyo University of Science), Yoshikazu Nakamura (Tokyo University of Science)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 028

クルクミン類縁体による HSP70/HSP40 の機能阻害ががん幹細胞画分に与える影響

* 鈴木 麻弥 (秋田大学大学院医学系研究科 分子病態学・腫瘍病態学講座), 大森 泰文 (秋田大学大学院医学系研究科 分子病態学・腫瘍病態学講座)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 029

pRB の FRET センサーの開発と G1/S 遷移機構の単一細胞解析

* 中島 早智也 (名古屋大学 理学部 生命理学科 | 自然科学研究機構 生命創成探究センター 定量生物学研究グループ | 基礎生物学研究所 細胞生物学領域 定量生物学研究部門), 後藤祐平 (自然科学研究機構 生命創成探究センター 定量生物学研究グループ | 基礎生物学研究所 細胞生物学領域 定量生物学研究部門 | 総合研究大学院大学 生命科学系研究科 基礎生物学専攻), 向井正哉 (自然科学研究機構 生命創成探究センター 定量生物学研究グループ | 基礎生物学研究所 細胞生物学領域 定量生物学研究部門 | 総合研究大学院大学 生命科学系研究科 基礎生物学専攻), 青木一洋 (自然科学研究機構 生命創成探究センター 定量生物学研究グループ | 基礎生物学研究所 細胞生物学領域 定量生物学研究部門 | 総合研究大学院大学 生命科学系研究科 基礎生物学専攻)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 030

Apicobasal の極性を制御する EHBP1L1 は赤芽球や筋肉の核の極性化に必須である

* WU JI (大阪大学医学系研究科細胞生物学)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 031

ショウジョウバエを用いた生理的細胞競合の解析

* 中村麻衣 (京都大学大学院生命科学系研究科), 丸山 博之 (京都大学大学院生命科学系研究科), 井垣 達吏 (京都大学大学院生命科学系研究科)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 032

Hippo 変異が駆動するスーパーコンペティションの遺伝学的解析

* 藤本咲紀 (京都大学生命科学研究科), 永田理奈 (京都大学生命科学研究科), 近藤周 (東京理科大学先進工学部), 齋藤都暁 (国立遺伝学研究所), 井垣達吏 (京都大学生命科学研究科)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 033

Lysosomal activity fluctuation in NSCs in the brain

* ZHANG HE (京都大学生命科学研究科)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 034

動物 iPS 細胞を用いた哺乳動物の新奇性・多様性の発生進化研究

* 今村 公紀 (京都大学ヒト行動進化研究センター)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 035

大腸がん細胞株の増殖性に L-アスコルビン酸が与える影響

* 鞠子 貴幸 (千葉工業大学大学院先進工学研究科生命科学専攻), 松井 常勝 (千葉工業大学大学院先進工学研究科生命科学専攻), 黒崎 直子 (千葉工業大学大学院先進工学研究科生命科学専攻)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 036

Controlling dendritic patterning of neocortical excitatory neurons through intracellular organelle dynamics

* 権田裕子 (東京医大・組織神経解剖 | 理研・CDB・大脳皮質発生), 花嶋かりな (早大・教育生物 | 理研・CDB・大脳皮質発生)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 037

細胞競合を駆動する分子機構の遺伝学的解析

* 川崎 あや (京都大学大学院生命科学研究科), 菅田 浩司 (京都大学大学院生命科学研究科), 永田 理奈 (京都大学大学院生命科学研究科), 小林 朋絵 (重井医学研究所 分子遺伝部門), 松山 誠 (重井医学研究所 分子遺伝部門), 井垣 達吏 (京都大学大学院生命科学研究科)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 038

がんの発生を抑制する組織微小環境の遺伝学的解析

* 中西 與範 (京都大学大学院薬学研究科生理活性制御学分野), 榎本 将人 (京都大学大学院薬学研究科生理活性制御学分野 | 京都大学大学院生命科学研究科システム機能学分野), 井垣 達吏 (京都大学大学院薬学研究科生理活性制御学分野)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 039

細胞競合における JNK 依存的な細胞死誘導を担う因子の同定とそのメカニズム

* 坪野友太郎 (京都大学薬学研究科), John Vaughen (京都大学生命科学研究科), Carmen Siow (京都大学生命科学研究科), 藤井貴輝 (京都大学生命科学研究科), 榎本将人 (京都大学生命科学研究科), 谷口喜一郎 (京都大学生命科学研究科), 井垣達吏 (京都大学薬学研究科 | 京都大学生命科学研究科)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 040

中心体非依存性経路の人為補強による安定なヒト一倍体細胞の作出

* 吉澤 晃弥 (北海道大学 大学院生命科学院), 上原 亮太 (北海道大学 大学院先端生命科学研究院)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 041

ダカルバジン耐性メラノーマ細胞の転移能

* 中野 美怜 (東京農工大学 工学府 生命工学専攻), 菅原 梨沙 (東京農工大学 工学府 生命工学専攻), 浅見 京花 (東京農工大学 工学府 産業技術専攻), 齊藤 美佳子 (東京農工大学 工学府 生命工学専攻)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 042

臓器連関を介したがん抑制型細胞競合の制御機構の解析

* 井原 紫乃 (京都大学薬学部), 掛村文吾 (京都大学生命科学研究科), 井垣達吏 (京都大学薬学部 | 京都大学生命科学研究科)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 043

D-Amino Acids, an individual bacterial component, promotes Urothelial cancer cell proliferation, invasion and migration.

* Nesrine Sassi (Graduate School of Medicine, Osaka University), Atsunari Kawashima (Graduate School of Medicine, Osaka University), Akinaru Yamamoto (Graduate School of Medicine, Osaka University), Toshihiro Uemura (Graduate School of Medicine, Osaka University), Yoshiyuki Yamamoto (Graduate School of Medicine, Osaka University), Yu Ishizuya (Graduate School of Medicine, Osaka University), Norio Nonomura (Graduate School of Medicine, Osaka University)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 044

TRF1-BTR-AURKB 経路は TRF2 を抑制することで M 期テロメア脱保護を促進する

* 林 眞理** (京都大学大学院医学研究科), Diana Romero Zamora* (京都大学大学院生命科学研究科), Samuel Rogers* (CMRI, University of Sydney, Australia), Ronnie Ren Jie Low (CMRI, University of Sydney, Australia), Alexander Sobinoff (CMRI, University of Sydney, Australia), Scott G. Page (CMRI, University of Sydney, Australia), 石川 冬木 (京都大学大学院生命科学研究科), Hilda Pickett (CMRI, University of Sydney, Australia), Anthony J. Cesare** (CMRI, University of Sydney, Australia)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 045

変異型 RAS 形質転換細胞におけるクロマチン動態の変化

* 大塚 碧 (国立遺伝学研究所 ゲノムダイナミクス研究室 | 総合研究大学院大学 生命科学研究科 遺伝学専攻), 南 克彦 (国立遺伝学研究所 ゲノムダイナミクス研究室 | 総合研究大学院大学 生命科学研究科 遺伝学専攻), 井手 聖 (国立遺伝学研究所 ゲノムダイナミクス研究室 | 総合研究大学院大学 生命科学研究科 遺伝学専攻), 田村 佐知子 (国立遺伝学研究所 ゲノムダイナミクス研究室), Michael J Hendzel (Departments of Oncology and Cell Biology, University of Alberta), 前島 一博 (国立遺伝学研究所 ゲノムダイナミクス研究室 | 総合研究大学院大学 生命科学研究科 遺伝学専攻)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 046

Single-nucleosome imaging/analysis reveals chromatin organization in living human cells.

* 前島一博 (国立遺伝学研究所), 野崎慎 (国立遺伝学研究所), 東光一 (国立遺伝学研究所), 新海創也 (理化学研究所), 岡田康志 (理化学研究所), 井手聖 (国立遺伝学研究所 | 理化学研究所), 飯田史織 (国立遺伝学研究所), 島添將誠 (国立遺伝学研究所), 大浪修一 (理化学研究所), 田村佐知子 (国立遺伝学研究所), 黒川顕 (国立遺伝学研究所)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 047

フックス角膜内皮ジストロフィにおける *in silico* での薬剤スクリーニングの検討

* 岡 惟月 (同志社大学 生命医科学部), 奥村 直毅 (同志社大学大学院 生命医科学研究科), 中川 達也 (同志社大学大学院 生命医科学研究科), 今井 康太 (同志社大学大学院 生命医科学研究科), Theofilos Tourtas (University of Erlangen-Nürnberg, Department of Ophthalmology), Ursula Schlötzer-Schrehardt (University of Erlangen-Nürnberg, Department of Ophthalmology), Friedrich Kruse (University of Erlangen-Nürnberg, Department of Ophthalmology), 小泉 範子 (同志社大学大学院 生命医科学研究科)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 048

Elucidation of the importance of DNA-to-cytoplasm ratio in the mouse pre-implantation embryo

* PAN, Tao (Department of Life Sciences, Graduate School of Arts and Sciences, The University of Tokyo), Natsumi Taira (Department of Biological Sciences, Graduate School of Science, The University of Tokyo), Miho Ohsugi (Department of Life Sciences, Graduate School of Arts and Sciences, The University of Tokyo; Department of Biological Sciences, Graduate School of Science, The University of Tokyo)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 049

蛍光タンパク質の内在性タギングにおける二重鎖切断修復経路の影響の検討

* 鄭千遥 (東京大学薬学系研究科生理化学教室), 畠星治 (東京大学薬学系研究科生理化学教室), 馬淵陽 (東京大学薬学系研究科生理化学教室), 北川大樹 (東京大学薬学系研究科生理化学教室)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 050

染色体融合に起因する微小核は cGAS/STING 経路を活性化しない

* 佐藤 裕樹 (京都大学生命科学研究科 | 京都大学大学院医学研究科 IFOM-KU 国際共同ラボ), 林 眞理 (京都大学大学院医学研究科 IFOM-KU 国際共同ラボ | Chromosome Instabilities Unit, IFOM ETS)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 051

哺乳類受精卵多核化抑制機構の解明を目指したヌクレオソームビーズの作製

* 角田 達紀 (東京大学 大学院総合文化研究科 広域科学専攻生命環境科学系 大杉研究室), 近藤 興 (東京大学 大学院総合文化研究科 広域科学専攻生命環境科学系 大杉研究室), 大杉 美穂 (東京大学 大学院総合文化研究科 広域科学専攻生命環境科学系 大杉研究室)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 052

遺伝性疾患 MOPD を軸とした、マイナーイントロンスプライシングによる分裂期中心体の制御機構の解明

* 許珉赫 (東京大学薬学系研究科), 伊藤慶 (東京大学薬学系研究科), 畠星治 (東京大学薬学系研究科), 北川大樹 (東京大学薬学系研究科)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 053

Nuclear condensates of oncogenic protein BRD4-NUT affect chromatin behavior in living human cells

* Adilgazy Semeigazin (Genome Dynamics Laboratory, National Institute of Genetics | Department of Genetics, School of Life Science, SOKENDAI)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 054

ヒト四倍体細胞における CEP192 遺伝子量依存的な中心体特性の解明

* 山本 隆博 (北海道大学 大学院生命科学院), 清光 智美 (沖縄科学技術大学院大学), 上原 亮太 (北海道大学 先端生命科学研究院)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 055

エクспанジョン顕微鏡により明らかとなったセントロメアーキネトコア構造

* 平野泰弘 (大阪大学大学院生命機能研究科), 平岡泰 (大阪大学大学院生命機能研究科), 深川竜郎 (大阪大学大学院生命機能研究科)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 056

核膜孔による遺伝子発現制御メカニズム

* 羽澤 勝治 (金沢大学), 牧山 桂 (金沢大学), Richard Wong (金沢大学)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 057

外来 DNA 侵入場における細胞質 DNA センサー BAF 及び cGAS の挙動解析

* 小林 昇平 (情報通信研究機構 未来 ICT 研究所 神戸フロンティア研究センター バイオ ICT 研究室), 氏家 加洋子 (情報通信研究機構 未来 ICT 研究所 神戸フロンティア研究センター バイオ ICT 研究室), 福田 紀子 (情報通信研究機構 未来 ICT 研究所 神戸フロンティア研究センター バイオ ICT 研究室), 新井 健太 (情報通信研究機構 未来 ICT 研究所 神戸フロンティア研究センター バイオ ICT 研究室), 森 知栄 (情報通信研究機構 未来 ICT 研究所 神戸フロンティア研究センター バイオ ICT 研究室)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 058

YAP/TEAD を介した負荷依存的なコラーゲン特異的分子シャペロン Hsp47 の発現調節機構の解明

* 葛西綾乃 (京都産業大学生命科学研究科), 伊藤進也 (Center for Molecular Biology of Heidelberg University), 潮田亮 (京都産業大学生命科学部), 永田和宏 (JT 生命誌研究館)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 059

血管・脂肪組織由来分泌因子 Favine の機能解析

* 小林 祥子 (大阪大学大学院医学系研究科 内分泌・代謝内科), 加藤恒 (大阪大学大学院医学系研究科内科学講座 血液・腫瘍内科学), 喜多俊文 (大阪大学大学院医学系研究科 肥満脂肪病態学寄附講座), 奥崎大介 (大阪大学免疫学フロンティア研究センター), 藤島裕也 (大阪大学大学院医学系研究科 内分泌・代謝内科), 西澤恭子 (野崎徳洲会病院), 大月道夫 (東京女子医科大学 内分泌内科学分野), 宮下かずや (株式会社 免疫生物研究所), 福原淳範 (大阪大学大学院医学系研究科 肥満脂肪病態学寄附講座), 森井英一 (大阪大学大学院医学系研究科 病態病理学講座), 下村伊一郎 (大阪大学大学院医学系研究科 内分泌・代謝内科)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 061

がん細胞およびがん細胞由来エクソソームの多様性によってもたらされる腫瘍進展機序の時空間的解明

* 瀨崎 祐斗 (東京工業大学・生命理工学院 | 東京大学・先端技術研究センター), 星野 歩子 (東京大学・先端技術研究センター)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 062

人工共生系を用いた藻類と魚類の相互作用解析

* 岡部耀二 (東大・新領域・先端生命), 尾田正二 (東大・新領域・先端生命), 園池公毅 (早稲田大・教育・生物), 松永朋子 (東大・新領域・先端生命), 松永幸大 (東大・新領域・先端生命)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 063

Cell face ID を用いたセルトラッキング

* 谷口 大相 (東京大学ニューロインテリジェンス国際研究機構 (WPI-IRCN) | 理化学研究所生命機能科学研究センター (BDR)), 犬塚 悠剛 (理化学研究所生命機能科学研究センター (BDR) | 東京大学大学院理学系研究科物理学専攻), 岡田 康志 (東京大学ニューロインテリジェンス国際研究機構 (WPI-IRCN) | 理化学研究所生命機能科学研究センター (BDR) | 東京大学大学院理学系研究科物理学専攻 | 東京大学大学院医学系研究科細胞生物学教室 | 東京大学大学院理学系研究科生物普遍性研究機構 (UBI))

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 064

卵巣がん由来エクソソームを介した組織型別腫瘍促進機構の解明

* 本城麻衣 (東京工業大学・生命理工学院 | 東京大学・先端科学技術研究センター), 佐藤美香 (東京工業大学・生命理工学院), 星野歩子 (東京工業大学・生命理工学院 | 東京大学・先端科学技術研究センター)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 065

Defining age-dependent EVP cargo and its function in inter-organ communication

* Akane Ichiki (Tokyo Institute of Technology | University of Tokyo), Ayuko Hoshino (University of Tokyo)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 066

ヒト血漿エクソソームを用いた自閉スペクトラム症病態機構の解明と診断マーカーの同定

* 杉浦圭 (東京大学大学院工学系研究科先端学際工学専攻 | 東京大学先端科学技術研究センター), 川口万太郎 (東京大学先端科学技術研究センター | 東京工業大学生命理工学院), 牧之段学 (奈良県立医科大学精神医学講座), 星野歩子 (東京大学大学院工学系研究科先端学際工学専攻 | 東京大学先端科学技術研究センター)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 067

Discovery of novel unnatural cyclic peptides by SELEX

* Wang Tong (山梨大学), Ando Takehiro (山梨大学), Yokoyama Takumi (山梨大学), Takamori Yukio (山梨大学), Fuji Daisuke (山梨大学), Vedi Santhana (山梨大学), Munshi Arifur (山梨大学), Yamamoto Mizuki (山梨大学), Kawakami Takashi (JST さきがけ)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 068

Discovery of IL-17/IL-17RA interaction inhibitors by SELEX

* Munshi Arifur (山梨大学), Ando Takehiro (山梨大学), Yokoyama Takumi (山梨大学), Takamori Yukio (山梨大学), Fuji Daisuke (山梨大学), Vedi Santhana (山梨大学), Wang Tong (山梨大学), Yamamoto Mizuki (山梨大学), Kawakami Takashi (JST さきがけ)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 069

Mortalin/HSPA9 regulates MPTP-induced Parkinson's disease via AKT and ERK signaling pathways

* Hyejin Hyung (Kyungpook national university), Zaeyoung Ryou (Kyungpook national university)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 070

A bright FLIM sensor for quantifying intracellular ATP

* Chongxia Zhong (Kanazawa University)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 071

ショウジョウバエ消化管に存在する老化責任細胞制御機構の解析

* 平井 友梨 (京都大学薬学研究科生理活性制御学分野), 芥 真弓 (京都大学薬学研究科生理活性制御学分野), 山田 幸輝 (京都大学薬学研究科生理活性制御学分野), 谷口 喜一郎 (京都大学薬学研究科生理活性制御学分野), 井垣 達吏 (京都大学薬学研究科生理活性制御学分野)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 072

比較生物学的アプローチから示される加齢にともなう遺伝子発現変化とその生体における有益性

* 吉田 優矢 (大阪公立大学大学院医学研究科病態生理), 高杉 征樹 (大阪公立大学大学院医学研究科病態生理), 野中 允幾 (大阪公立大学大学院医学研究科病態生理), 大谷 直子 (大阪公立大学大学院医学研究科病態生理)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 073

レム睡眠中の脳活動がマウスのストレス抵抗性へ与える影響の検討

* 安垣進之助 (筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構 (WPI-IIS)), 柏木光昭 (筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構 (WPI-IIS) | 東京大学理学系研究科生物科学専攻), 鹿糠実香 (筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構 (WPI-IIS)), 小柳伊代 (筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構 (WPI-IIS)), 坂口昌徳 (筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構 (WPI-IIS)), 柳沢正史 (筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構 (WPI-IIS)), 林悠 (筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構 (WPI-IIS) | 東京大学理学系研究科生物科学専攻)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 074

カウフマン症候群原因遺伝子 *Ube3b* が若年成人期シナプス数維持に及ぼす影響

* 小金澤 紀子 (群馬大学 大学院医学系研究科 薬理学), 勝部 早紀 (群馬大学 大学院医学系研究科 薬理学 | 群馬大学 医学部), 花村 健次 (群馬大学 大学院医学系研究科 薬理学), 川辺 浩志 (群馬大学 大学院医学系研究科 薬理学)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 075

膠芽腫細胞浸潤におけるインポーチン $\alpha 1$ と細胞接着因子の関係

* 山内 貴寛 (福井大学医学部 脳神経外科), 野宮 廣貴 (福井大学医学部 分子生体情報学), 菊田 健一郎 (福井大学医学部 脳神経外科), 山田 雅巳 (福井大学医学部 分子生体情報学)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 076

パルミトイル化阻害によるオートファジーへの影響の解析

* 西 美生子 (兵庫県立神戸高等学校), 佐伯 麻里花 (大阪大学大学院 生命機能研究科 時空生物学講座 細胞内膜動態研究室), 田端 桂介 (大阪大学大学院 生命機能研究科 時空生物学講座 細胞内膜動態研究室), 吉森 保 (大阪大学大学院 生命機能研究科 時空生物学講座 細胞内膜動態研究室 | 大阪大学大学院 医学系研究科 遺伝学教室 | 大阪大学先導的学際研究機構 生命医科学融合フロンティア研究部門)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 077

がん細胞におけるオートファジー抑制タンパク質 Rubicon の動態解明

* 白井莉菜 (関西大学第一高等学校), 小倉もな美 (大阪大学大学院 生命機能研究科), 井本ひとみ (大阪大学大学院 生命機能研究科), 吉森保 (大阪大学大学院 生命機能研究科)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 078

Mechanism of Coumarin's Germination Inhibition

* 福田和真 (佐賀県立致遠館高等学校)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 079

Quantitative analysis of Akt isoform-specific temporal activation dynamics with optogenetics and mathematical model

* Yuka Sekine (The University of Tokyo), Genki Kawamura (The University of Tokyo), Takeaki Ozawa (The University of Tokyo)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 080

レーザーアブレーション法を用いたアクチン細胞骨格の損傷回復機構の解析

* 長山 和亮 (茨城大学大学院理工学研究科 機械システム工学専攻)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 081

細胞競合はモルフォゲン勾配の乱れを解消することで頑強な器官発生を支える

* 松本かな子 (大阪大学 微生物病研究所 生体統御分野 | 大阪大学 理学研究科), 穂枝佑紀 (大阪大学 微生物病研究所 生体統御分野), 原岡由喜也 (大阪大学 微生物病研究所 生体統御分野), 石谷太 (大阪大学 微生物病研究所 生体統御分野)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 082

転写因子 Gli1/Gli2/Gli3 の繊毛先端への輸送の分子機構と役割

* 石田 大和 (京都大学薬学研究科生体情報制御学分野), 高橋 優利 (京都大学薬学研究科生体情報制御学分野), 加藤 洋平 (京都大学薬学研究科生体情報制御学分野), 中山 和久 (京都大学薬学研究科生体情報制御学分野)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 083

血流依存的な血管・上皮相互作用によるガス交換組織形成機構の解析

* 中嶋 洋行 (国立循環器病研究センター), 望月 直樹 (国立循環器病研究センター)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 084

F₀F₁-ATP 合成酵素によるミトコンドリアの新規制御機構

* 市川 葵 (大阪大学理学研究科生物科学専攻), 丸山 翔太 (大阪大学理学研究科生物科学専攻), 石原 孝也 (大阪大学理学研究科生物科学専攻), 石原 直忠 (大阪大学理学研究科生物科学専攻)

14:45-16:15

P - D3 - P001 - 085

異常な pH 環境は細胞競合を介した細胞品質管理機構を破綻させる

* 穂枝 佑紀 (大阪大学微生物病研究所生体統御分野), 石谷 太 (大阪大学微生物病研究所生体統御分野)

14:45-16:15

14:45-16:15 (2023-06-30 14:45 - 16:15 | ポスター会場)

P - D3 - P001 - 001

患者由来 iPS 細胞を用いたアルツハイマー依存的神経新生不全モデルの構築と構築モデルを用いた神経新生不全回復薬の同定

* 中津大貴 (東京工業大学 科学技術創成研究院 細胞制御工学研究センター), 國重莉奈 (東京工業大学 科学技術創成研究院 細胞制御工学研究センター / マルチモーダル細胞解析協働研究拠点), 田口由起 (東京工業大学 科学技術創成研究院 細胞制御工学研究センター / マルチモーダル細胞解析協働研究拠点), 成川 - 篠崎苗子 (東京工業大学 科学技術創成研究院 細胞制御工学研究センター), 大坂企志子 (東京工業大学 科学技術創成研究院 細胞制御工学研究センター), 横溝佳代 (東京工業大学 科学技術創成研究院 細胞制御工学研究センター), 石田真美 (東京工業大学 科学技術創成研究院 細胞制御工学研究センター), 武居俊輔 (株式会社ニコン ヘルスケア事業部 技術統括部 システム開発部), 山崎聖子 (株式会社ニコン 研究開発本部 数理技術研究所), 萩屋啓太 (富士フイルム株式会社), 服部功太郎 (国立精神・神経医療研究センター メディカル・ゲノムセンター バイオリソース部), 塚本忠 (国立精神・神経医療研究センター 病院), 村田昌之 (東京工業大学 科学技術創成研究院 細胞制御工学研究センター / マルチモーダル細胞解析協働研究拠点), 加納ふみ (東京工業大学 科学技術創成研究院 細胞制御工学研究センター)

キーワード: アルツハイマー病, iPS 細胞, 神経新生, 薬剤スクリーニング, 画像解析

アルツハイマー病は脳の認知機能低下を引き起こす重篤な疾患である。この認知機能の低下の原因となる神経細胞数の減少は、アミロイドβの蓄積やリン酸化タウタンパク質の増加を要因とした神経細胞死の亢進だけでなく、海馬の神経幹細胞からの神経新生の低下とも密接に関わることが近年の研究から示唆されている。しかし、海馬における神経新生の低下の発生機構や低下を改善する薬剤の開発は十分に進んでいない。私達は、孤発性及び家族性アルツハイマー病患者由来の iPS 細胞から、アルツハイマー病下の海馬の神経幹細胞と同様の、神経新生能力の低い神経幹細胞を生成することに成功した。また、神経幹細胞の神経新生能力を回復させる薬剤の同定のため、15 種類の神経新生促進剤によるスクリーニングを行い、BMP シグナルの阻害剤である LDN-193189、レチノイン酸受容体の活性化剤である Isotretinoin、Smoothened 受容体の活性化剤である SAG の 3 つが、神経新生能力を回復させることを確認した。さらに、蛍光染色した神経の顕微鏡撮影画像を用いた解析から、LDN-193189 が最も高い神経新生回復能力を持つことを明らかにした。続いて、LDN-193189 が神経幹細胞の神経新生能力を回復させる機構の解析を行った。その結果、LDN-193189 が、BMP4-SMAD1/5/9-RUNX2 シグナルの阻害を介して神経幹細胞からのアストロサイト新生を抑制することで、神経やオリゴデンドロサイトなど他の神経幹細胞由来細胞を増加させていることが確認された。また、孤発性アルツハイマーモデルマウスやアルツハイマー病患者由来脳脊髄液を用いた解析から、アルツハイマー病により神経新生能力が低下した海馬でも BMP4-SMAD1/5/9-RUNX2 シグナルが増強されており、同シグナルの抑制により神経新生が回復する可能性が示唆された。

14:45-16:15 (2023-06-30 14:45 - 16:15 | ポスター会場)

P - D3 - P001 - 002

カスパーゼは紡錘体チェックポイント構成因子 BubR1 を切断し、ショウジョウバエ個体の寿命を制限する

* 篠田 夏樹 (東京大学 大学院薬学系研究科), 堀越 水涼 (東京大学 大学院薬学系研究科), 平 雄介 (東京大学 大学院薬学系研究科), 平山 尚志郎 (東京大学 大学院薬学系研究科), 村田 茂穂 (東京大学 大学院薬学系研究科), 三浦 正幸 (東京大学 大学院薬学系研究科), 村本 雅哉 (東京大学 大学院薬学系研究科)

キーワード: カスパーゼ, BubR1, ショウジョウバエ, 寿命, TurboID

細胞死実行因子として有名なカスパーゼは、ヒトでは 1,500 以上の基質を切断し、細胞死性 / 非細胞死性に様々な機能を発揮する。しかし、特に非細胞死性の文脈において、1. 基質切断の生理学的な意義、及び 2. 選択的基質の切断を達成する分子機構、の 2 点は多くの場合で明らかでない。我々は、紡錘体チェックポイント構成因子 BubR1 をショウジョウバエにおけるカスパーゼの新規基質として同定した。切断部位の決定及び切断不全変異体ショウジョウバエ系統の作出から、変異体において紡錘体チェックポイント機能の増強を認めた。すなわち、切断によって BubR1 の機能が欠損することが示唆された。マウスにおいて *BubR1* 変異体系統が早老症様の表現型を示すこと、また *BubR1* 過剰発現系統で個体寿命が延長することが報告されていた。興味深いことに、切断不全変異体ショウジョウバエ系統では個体寿命の延長が観察された。以上の結果から、カスパーゼは BubR1 の切断を介して寿命を制限することが明らかとなった。さらに、近接依存性標識法 TurboID による解析から、生体において BubR1 は実行カスパーゼ Drice の近くに存在することが明らかとなった。また、この近接は切断部位のアスパラギン酸残基に依存しなかった。以上の結果は、カスパーゼと基質は切断以前から近接して存在することで、非細胞死性に選択的な基質切断が可能になる可能性を示す。今後、近接依存性標識法の適用により、非細胞死性の文脈における重要度の高い基質の発見及び新規非細胞死性機能の発見が期待される。

統合的ストレス応答は腫瘍内不均一性を介したがん進展を駆動する

* 谷口 喜一郎 (京都大学生命科学研究科), 福本 果歩 (京都大学生命科学研究科), 小林 朋絵 (重井医学研究所分子遺伝部門), 松山 誠 (重井医学研究所分子遺伝部門), 大澤 志津江 (名古屋大学理学研究科), 井垣 達吏 (京都大学生命科学研究科)

キーワード: 統合的ストレス応答, Ras, 腫瘍内不均一性, ショウジョウバエ

がん組織の多くは、複数の変異サブクローンの集団からなることが知られている。腫瘍内不均一性と呼ばれるこの性質は、腫瘍悪性化の原因の一つとして注目されている。しかしながら、腫瘍内における変異サブクローンの実態や、変異サブクローン間の相互作用による腫瘍悪性化機構については不明な点が多い。これらの問題に取り組むべく、我々はショウジョウバエ Ras 良性腫瘍モデルを用いて、細胞間相互作用を介したがん進展メカニズムの解析をおこなってきた。複眼原基において、がん遺伝子 Ras を活性化した体細胞クローン (RasV12 クローン) をモザイク状に誘導すると良性腫瘍が作りだされる。このとき RasV12 クローンにさらにホモ接合変異を導入し、周辺の野生型細胞に過剰増殖を引き起こす変異体を探索した。その結果、RasV12 クローンにスプライシング異常、DNA 複製ストレス、あるいはミトコンドリア機能障害を引き起こす変異が導入されると、周辺の野生型細胞が過剰増殖することが分かった。これら異なる 3 種類の変異モデル系を用い、その共通性を探ることで Ras 活性化腫瘍における変異サブクローンを起点とした腫瘍悪性化機構の解明をめざした。その結果、いずれの変異モデル系においてもクローン内で統合的ストレス応答が生じており、これが周辺細胞の過剰増殖を惹起するのに必要十分であることが分かった。さらに、統合的ストレス応答と Ras の協調的作用により、増殖性サイトカインである Unpaired 3/IL-6 および Hedgehog の転写が誘導されることで、周辺組織に細胞増殖が誘導されることが分かった。これらの結果は、様々な要因で惹起される統合的ストレス応答が Ras 活性化腫瘍の一部で起こることで腫瘍内不均一性が生じ、これによって腫瘍悪性化が惹起されることを示唆している。

細胞競合における Ca^{2+} シグナルの *ex vivo* ライブイメージングによる時空間的解析

* 城戸明日香 (京都大学薬学部), 永田理奈 (京都大学生命科学研究科), 谷口喜一郎 (京都大学生命科学研究科), 井垣達吏 (京都大学薬学部 | 京都大学生命科学研究科)

キーワード: 細胞競合, ライブイメージング, ショウジョウバエ, Ca^{2+} シグナル

細胞競合とは、生体内環境に対して適応度の高い細胞 (勝者) が隣接する適応度の低い細胞 (敗者) を排除する現象であり、組織の品質維持やがん抑制などに寄与していると考えられている。細胞競合の過程は、勝者-敗者細胞間の認識、細胞間コミュニケーションによる細胞内シグナル制御、敗者細胞の排除など、多段階的な時空間的プロセスによって制御されていると考えられる。しかしながら、これまでの細胞競合研究は固定サンプルにおける免疫染色等による解析がほとんどで、細胞競合現象をスナップショット的にしか捉えることができていなかった。そこで本研究では、ショウジョウバエ翅原基の *ex vivo* 培養法を改善し、ライブイメージングによる細胞競合の時空間的解析を行った。

我々はこれまでに、タンパク質合成低下をもたらす *Hel25E* 変異細胞 (敗者) が野生型細胞 (勝者) に隣接したときにオートファジー依存的に排除されることを報告した。オートファジーの上流メカニズムとして、 Ca^{2+} シグナルの重要性が知られている。そこで、ライブイメージングの系を用いて Ca^{2+} シグナルの解析を行った。その結果、ショウジョウバエの翅原基の pouch 領域全体で周期的にギャップジャンクション依存的な Ca^{2+} wave が存在することを見いだした。さらに、*Hel25E* 変異細胞モザイクの細胞競合モデルにおいて、勝者細胞との境界にある敗者細胞では Ca^{2+} シグナルが変化していることがわかった。以上のことから、 Ca^{2+} シグナルは競合の制御に重要であることが示唆された。本発表では、ライブイメージング観察から見えてきた Ca^{2+} シグナルの細胞競合における役割について議論したい。

G2/M 期移行は CDK 活性の閾値によって規定される

* 杉山 博紀 (生命創成探究センター), 後藤 祐平 (総研大), 近藤 洋平 (総研大), 青木 一洋 (総研大)

キーワード: 細胞周期, Cyclin-dependent kinase, 分裂酵母, バイオセンサー, ライブイメージング

Cyclin-dependent kinase (CDK) は細胞周期における種々のイベントを適切な時期に誘導するために不可欠な因子である。CDK の調節因子についての個別の見解が蓄積するなかで、それらの調節因子がいかに協調し、CDK 活性制御を通じて適切な細胞周期を実現するか、という 1 細胞レベルでの動的な機構の解明を志す機運が高まりつつある。遺伝学的研究が容易で、かつ、ただ一つの CDK によって細胞周期が制御される分裂酵母 *Schizosaccharomyces pombe* は、より高次の細胞に対する実験的なモデル系として最適である。我々は、CDK 活性を可視化するためのバイオセンサーの開発し、様々な変異体における CDK 活性の動的な振舞いを一細胞レベルで定量することで、こうした細胞周期の動的な制御原理に迫ることを着想した。

我々の開発したバイオセンサー (Eevee-spCDK) は、CDK の基質部のリン酸化により、蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) の効率が上昇するよう設計されている。すなわち、CDK 活性を FRET 効率に変換することで、顕微鏡下の一細胞レベルでの計測・定量が可能となる。我々はまず、栄養増殖サイクルにある分裂酵母の CDK 活性は、S 期における一過的な上昇、G2 期初期における緩やかな上昇を経て、G2/M 期移行の直前から急激に上昇をはじめ、M 期の終わりに急減することを見出した。興味深いことに、細胞長や CDK の調節因子を摂動した変異株では、Cyclin の濃度と CDK 活性は必ずしも相関しないケースも認められたが、それらいずれの場合においても、G2/M 期移行付近における CDK 活性はほとんど同じレベルであった。これらの結果は、分裂酵母の G2 期から M 期への移行は、ある特定の CDK 活性の閾値に達した際に誘導されるという描像に初めて直接的な証拠を与えたものである。

SR-12813 はスタチン誘発性 HMG-CoA 還元酵素タンパクを分解することでアトルバスタチンの制がん効果を高める

* 周 雅軒 (関西学院大学大学院 理工学研究科), 田代 二郎 (鳥取大学 農学部獣医解剖), 鎌谷 汐里 (鳥取大学 農学部獣医解剖), 入江 七海 (関西学院大学大学院 理工学研究科), 杉浦 曜大 (鳥取大学 農学部獣医解剖), 石川 拓郎 (愛知医科大学 医学部), Zoltán N. Oltvai (ロチェスター大学 医学部), 割田 克彦 (鳥取大学 農学部獣医解剖), 割田 友子 (関西学院大学 生命環境学部)

キーワード: スタチン, がん抑制, SR-12813, HMG-CoA 還元酵素, タンパク質分解

【目的】コレステロール低下薬であるスタチンに、がん治療薬としての応用が期待されている。スタチンは、メバロン酸経路の律速因子である HMG-CoA 還元酵素 (HMGR) を特異的に阻害することでコレステロールの生合成を抑える。一方で、スタチンは処置後に HMGR タンパクの発現を亢進させ、このスタチンにより誘発された HMGR タンパクの増加がスタチンの効果を弱めることが示唆されている。本研究では、HMGR のタンパク分解作用を有する SR-12813 をスタチンと併用し、がん細胞のスタチンへの感受性を増強させることを目的とした。

【方法】スタチン耐性および感受性がん細胞、各 4 種を用いて 0 ~ 20 μ M の SR-12813 を単独処置し、細胞増殖への影響がみられない濃度をアトルバスタチンと併用する SR-12813 の濃度とした。次に、SR-12813 と 0 ~ 30 μ M のアトルバスタチンを併用し、がん細胞への影響を検討した。細胞増殖の評価はホルマザン色素の比色定量により行い、また、HMGR タンパクの発現は Western Blotting により解析した。

【結果および考察】全てのがん細胞において細胞増殖が抑制されなかった 5 μ M の SR-12813 をアトルバスタチンと併用する濃度とした。本実験におけるアトルバスタチンの最高濃度 (30 μ M) でも増殖抑制がみられなかった耐性細胞も含め、SR-12813 との併用は、全てのがん細胞において、細胞増殖を抑制するアトルバスタチンの濃度を低下させた。また、5 μ M の SR-12813 を処置すると、HMGR タンパク量の著しい減少が観察され、SR-12813 による HMGR の分解が確認された。以上より、SR-12813 は HMG-CoA 還元酵素の分解を促進することで、がん細胞のスタチン感受性を高め、がん細胞の増殖抑制に有効であることが示唆された。

The extracellular vesicles secreted from IRSp53-mediated membrane protrusions promote cancer cells proliferation via surface integrin and laminin

* Hu Hooi Ting (Nara Institute of Science and Technology), Tamako Nishimura (Nara Institute of Science and Technology), Shiro Suetsugu (Nara Institute of Science and Technology)

キーワード : IRSp53, Extracellular vesicles, Extracellular matrix, integrin, cell proliferation

Extracellular vesicles (EVs) mediate the intercellular exchange of signaling molecules, especially in cancer cell signal transduction. EVs can carry various signaling molecules in the plasma membrane-encapsulated compartment as well as on the surface of the vesicle. To date, there is very little research on the secretion of EVs from the plasma membrane, and the role of EV surface molecules in cancer progression. Here, we demonstrated that the membrane-shaping protein, IRSp53, was essential for membrane protrusions and the EV secretion for the proliferation of the cancer cells. Using the cancer genomics database, we found that IRSp53 expression level was correlated to the lifespan of head and neck cancer patients. The depletion of IRSp53 from the head and neck cancer cells reduced both the number of membrane protrusions and EV secretion, demonstrating the essentiality of IRSp53 in these processes. To explore the content of IRSp53-mediated EVs, we performed mass spectrometry analysis on the EVs fraction. The IRSp53-mediated EVs contained integrin- α 2 and extracellular matrix (ECM) proteins, such as laminin. The deprivation of ECM protein from the EV surface and the blockade of integrin receptors using RGD peptide reduced the EV-mediated cell proliferation, which was also indicated by the levels of MAPK/ERK activity upon the EV treatment. Moreover, the depletion of integrin- α 2 from the recipient cells reduced the EV uptake. These results suggested that ECM molecules, such as laminin, are the bridge of the EV binding to the recipient cells through integrin- α 2 on both EV and the cell surface for the proliferation of the head and neck cancer cells.

Cyclin-dependent kinase inhibitors regulate the watershed between neural and glial lineage transition in the developing cortex

* Yoichi Kosodo (Korea Brain Research Institute), Wonyoung Lee (Korea Brain Research Institute)

キーワード : Neural stem cells, Glial differentiation, Brain development, Cell cycle, Neurogenesis

Neural progenitor cells can generate neurons and glia, but the regulatory mechanisms to invoke different lineages are largely unclear. Here, we addressed the role of cyclin-dependent kinase inhibitors (CDKIs) in the later stage of embryonic brain development. We found upregulations of p18 and p27 among CDKIs at the onset of astrocyte generation. Overexpression of p18 resulted in increased astrocytes with reduced Satb2-positive neurons, while loss-of-p18 and -p27 functions had opposite effects. These results indicate that the level of CDKIs at the transitional stage regulates the lineage switching between neurons and astrocytes. We generated a conditional knock-in mouse to induce p18 in neural progenitor cells. The transcriptome of micro-dissected tissue showed the enhanced activities of neuron fate commitment, glial cell development, and delta-notch signaling pathways by the increased p18. Functional analysis of individual genes revealed that olfactory bulb interneurons were induced from multipotent intermediate cells with a reduction of astrocytes in the later stage of the embryo. Together, our results demonstrated the function of CDKIs in sequentially determining the boundary among different cellular lineages in the brain.

14:45-16:15 (2023-06-30 14:45 - 16:15 | ポスター会場)

P - D3 - P001 - 009

細胞競合を駆動する細胞非自律的オートファジーの誘導メカニズム

* 永田 理奈 (京都大学大学院生命科学研究所), 城戸 明日香 (京都大学薬学部), Lina Zang (Hong Kong University of Science and Technology, Division of Life Science), Ying Wang (Hong Kong University of Science and Technology, Division of Life Science), Mingxi Deng (Hong Kong University of Science and Technology, Division of Life Science), 近藤 周 (国立遺伝学研究所), 齋藤 邦暁 (国立遺伝学研究所), 松山 誠 (重井医学研究所分子遺伝部門), 小林 朋絵 (重井医学研究所分子遺伝部門), Yan Yan (Hong Kong University of Science and Technology, Division of Life Science), 井垣 達史 (京都大学大学院生命科学研究所)

キーワード: 細胞競合, 細胞死, オートファジー, ショウジョウバエ

細胞競合とは、組織中で隣り合う細胞間で生体内環境への適応度が高い細胞（勝者）が低い細胞（敗者）を排除する現象であり、細胞集団のクオリティを最適化する恒常性維持機構として機能していると考えられる。我々はこれまでに、タンパク質合成の低下を引き起こす種々の変異細胞（敗者）が野生型細胞（勝者）に近接すると変異細胞内でオートファジー活性が上昇し、その下流でNFkBの活性化を介して細胞死遺伝子 *hid* が発現誘導され細胞死が起こることを見いだしてきた。また、Hippo 経路変異細胞が隣接する野生型細胞を排除する細胞競合（スーパーコンペティション）においても、Hippo 変異細胞に近接する野生型細胞（敗者）で同様のメカニズムによって細胞死が引き起こされることがわかった。以上のことから、勝者細胞が近接する敗者細胞に細胞非自律的にオートファジーを誘導することが、細胞競合の共通メカニズムである可能性が見えてきた。しかし、どのようなメカニズムで敗者細胞特異的にオートファジーが誘導されるのかは不明であった。これにアドレスするため、細胞競合を誘発したショウジョウバエ成虫原基を用いて single-cell RNA-seq 解析を行い、敗者細胞特異的に発現変化する遺伝子群を探索した。その結果、細胞間接着に直接関わる分子を同定することに成功した。現在、細胞間接着を介した細胞間相互作用がどのようにしてオートファジー誘導を引き起こすのかを解析中であり、併せて報告したい。

14:45-16:15 (2023-06-30 14:45 - 16:15 | ポスター会場)

P - D3 - P001 - 010

オプトジェネティクスを用いた破骨細胞分化の光制御

* 高田 愛子 (東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 咬合機能矯正学分野), 石井 智浩 (東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 細胞生物学分野), 中浜 健一 (東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 分子細胞機能学分野), 浅野 豪文 (東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 細胞生物学分野), 小野 卓史 (東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 咬合機能矯正学分野), 中田 隆夫 (東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 細胞生物学分野)

キーワード: 破骨細胞, 光遺伝学, オプトジェネティクス, 細胞内シグナル伝達, 細胞分化

矯正歯科治療における歯の移動は、骨芽細胞による骨形成と破骨細胞による骨吸収が関わっており、歯槽骨のリモデリングを制御することが重要である。最近の研究では破骨細胞から骨芽細胞への逆シグナルが存在することも明らかとなっており、破骨細胞分化を人工的に誘導できれば、それは歯の移動を加速し治療期間を短縮するという画期的な治療法となりうる。これまで我々は、オプトジェネティクスとよばれる光照射のオン・オフによって細胞の活動を制御する技術について研究を重ねてきた。オプトジェネティクスを用いる利点は光照射によって細胞を時空間的に自由に操作できることである。本研究では、骨のリモデリングにおいて重要な役割を持つ破骨細胞に着目し、新規に開発したオプトジェネティクスツールを用いて細胞内シグナル伝達を制御することで破骨細胞分化の誘導を試みた。破骨細胞の分化・成熟に関わる細胞内シグナルを光で操作できるオプトジェネティクスツールを作成し、破骨前駆細胞にレトロウイルスを用いて導入した。オプトジェネティクスツールを安定発現した細胞において、培養中に光照射することで破骨細胞の分化誘導を行った。分化誘導後は破骨細胞分化の指標となる TRAP 活性の上昇や、細胞分化マーカーとなる遺伝子発現の変化を認めた。さらに、骨吸収活性があることも確認し、機能的にも成熟破骨細胞の性質を持つことが示された。通常、破骨細胞の分化誘導に使われる RANKL タンパク質を添加せずに、今回作成したオプトジェネティクスツールによって光だけで分化誘導を制御できることを利用すれば、破骨細胞分化における細胞内シグナルの詳細な時空間的解析も可能になる。今後、特定の部位に光照射することで骨のリモデリングを自在に制御することができれば、矯正歯科治療における歯の移動のみならず、様々な骨疾患の新たな治療法の開発にも貢献することが期待される。

Src 誘導性のがん進展メカニズムの遺伝学的解析

* 小川 慶悟 (京都大学大学院 生命科学研究科), 榎本 将人 (京都大学大学院 生命科学研究科), 井垣 達吏 (京都大学大学院 生命科学研究科)

キーワード: Src, hippo, tumor progression, miRNA, JAK/STAT

がん遺伝子 Src の発現量および活性は多くのヒトのがんで上昇している。しかし、Src がどのようにがん進展を促しているのか、そのメカニズムはほとんど明らかになっていない。当研究室ではこれまでに、ショウジョウバエ上皮である複眼原基に Src64B (c-Src ホモログ) を活性化させた細胞集団を野生型細胞と隣接するように誘導すると、Src 活性化細胞集団は腫瘍増殖するどころか、むしろ組織から排除されるということを示してきた。我々は最近、Src 活性化細胞集団はほとんどのがん原性変異と相互作用を示さないが、がん抑制遺伝子 *hippo* (*hpo*) の変異を導入すると非常にドラスティックな相乗的増殖促進を引き起こすことを見出した。この相乗的な腫瘍増殖には、Hippo 経路の下流で活性化する転写共役因子 Yorkie (YAP/TAZ ホモログ) により発現誘導される microRNA の *bantam* が必要であることを明らかにした。さらに、Src 活性化細胞集団の腫瘍増殖に必要な *bantam* のターゲット遺伝子として、細胞死遺伝子 *hid* と JAK/STAT 経路の負の制御因子である *Socs36E* を同定した。本発表では、Src 活性化細胞集団の相乗的な腫瘍増殖のメカニズムについて議論したい。

細胞性粘菌の発生分化における高 ATP 細胞の挙動と役割

* 平岡 陽花 (阪大院・生命機能 | 名大院・理), Wang Jiewen (大阪公立大・情報), 中野 賢 (大阪公立大・情報), 平野 泰弘 (阪大院・生命機能), 山崎 真一 (阪大院・生命機能), 平岡 泰 (阪大院・生命機能), 原口 徳子 (阪大院・生命機能)

キーワード: 細胞分化, 細胞性粘菌, ATP, イメージング

発生は、細胞が細胞運動を伴い分化していくダイナミックな過程である。どの細胞が何に分化するか、その運命決定に働く因子の分子基盤は、多くの生物で分かっていない。我々は、原始的な真核生物である細胞性粘菌を用いて、発生・分化過程で働く因子の解析を行ってきた。細胞性粘菌は、アメーバ様の単細胞が飢餓によって集合体を形成し、集合体内で細胞が回転運動をするマウンド期、集合体が移動するスラッグ期を経て、柄細胞と孢子細胞に分化し子実体を形成する。我々は、これまでに、遺伝子発現解析や生細胞イメージングなどを用いて、細胞内 ATP 濃度の高い細胞が柄細胞に、低い細胞が孢子細胞に分化することを示し、細胞内の ATP 濃度が分化運命の方向性を決める因子の一つであることを明らかにした。本研究では、その機構を明らかにする目的で、ATP 濃度と細胞運動との関係を調べた。細胞性粘菌用 ATP プローブ DicMaLionR を発現する細胞を用いて細胞内 ATP 濃度を可視化し、各発生段階における細胞の挙動を調べたところ、細胞の回転運動が見られるマウンド期に、ATP 濃度が高い高 ATP 細胞がマウンド中心に集まってくるのが分かった。この回転運動を中心方向と接線方向の2成分に分解して解析したところ、高 ATP 細胞は中心方向の速度成分が大きいことが分かった。さらに、この結果に基づいて、中心へ向かう力と細胞間接着力などを想定してシミュレーションを行った。その結果、中心へ向かう力が高いだけでは不十分で、細胞間接着力を小さくすることで、実測データと類似したパターンを再現することができた。従って、高 ATP 細胞では、特定の方向への移動能力が高いだけでなく、細胞間接着が弱い可能性が示唆された。これは、ATP が単に移動のためのエネルギー消費に必要なだけでなく、細胞接着などの細胞構造に影響することで、分化に積極的に関与する可能性を示唆している。

出芽酵母の非分裂細胞におけるカロリー制限による寿命短縮効果の発見

* 尾崎 行憲 (京都大学大学院理学研究科生命科学専攻環境応答遺伝子科学研究室)

キーワード: カロリー制限, 寿命制御, 非分裂細胞, アミノ酸要求性, 出芽酵母

カロリー制限処理は様々な生物種において寿命延長効果を持つことが知られている。出芽酵母を用いた非分裂細胞の寿命を計測する実験系「経時寿命」においても、カロリー制限は寿命延長を行うと報告されてきた。

先行研究で報告されている寿命制御現象に、アミノ酸要求性株をアミノ酸枯渇培地で培養すると寿命短縮が起きるといものがある (Boer VM, et al 2008)。これは自然ではありえないアミノ酸要求性という実験酵母株の特性によって引き起こされるものであり、自然環境で起こりうる窒素飢餓、リン酸飢餓では発生しないことが分かっている。また、アミノ酸要求性による寿命短縮はカロリー豊富条件下のみ起こることが報告されているが、カロリー制限との関連性についてはあまり研究が行われていない。

カロリー制限による寿命延長メカニズムには、いまだ未解明の経路が存在することが予測されている。本研究では「カロリー豊富条件下のみで起こる、アミノ酸要求性による寿命短縮」を反転し、アミノ酸要求性こそ未解明のカロリー制限による寿命延長メカニズムであると考えた。その検証のため、アミノ酸要求性かつアミノ酸枯渇培地で培養したとき、カロリー制限条件下で寿命延長が起きることを確認した。また、アミノ酸要求性による寿命短縮が起きないように、アミノ酸が比較的豊富な条件下で寿命測定を行うとき、カロリー制限はどのように寿命制御を行うのかという点に着目し実験を行い、カロリー制限下において寿命が短縮されることが観測された。これは従来の見識とは異なる知見を指し示す。また、アミノ酸要求性による寿命短縮がどのようなメカニズムで起こるのかを調べるため、培地 pH 解析、DNA 損傷の蓄積、細胞周期解析などを行い報告する予定である。

[1] Boer VM, Amini S, Botstein D. Influence of genotype and nutrition on survival and metabolism of starving yeast. Proc Natl Acad Sci U S A. 2008 May 13;105 (19) : 6930-5. doi : 10.1073/pnas.0802601105. Epub 2008 May 2. PMID : 18456835; PMCID : PMC2383937.

Zfp507 plays a role in regulating embryonic stem cell-derived insulin-producing beta cells differentiation and mice glucose homeostasis.

* Jin Hong Lee (School of Life Sciences, BK21 FOUR KNU Creative BioResearch Group, Kyungpook National University, Daegu 41566, Republic of Korea), Si Jun Park (Institute of Life Science and Biotechnology, Kyungpook National University), Myoung Ok Kim (Research Center for Horse Industry, Kyungpook National University, Sangju 37224, Republic of Korea), Zae Young Ryoo (School of Life Sciences, BK21 FOUR KNU Creative BioResearch Group, Kyungpook National University, Daegu 41566, Republic of Korea)

キーワード: Zfp507, TGF-beta signaling, beta cell differentiation, pancreatic beta cell, glucose homeostasis

Zinc finger protein 507 (Zfp507) is a C2H2 type zinc finger protein that regulates gene expression through transcription co-factor and chromatin binding. In a previous study, when the Zfp507 gene was knocked down in prostate cancer, metabolism and diabetes relating genes were downregulated, which was known to be associated with Transforming growth factor- β (TGF- β) signaling. So we predicted Zfp507 gene might be associated with diabetes. In this study, using lentiviral infected Zfp507 knockdown (Zfp507-KD) mouse embryonic stem cell line E14 cells (mESCs), pancreatic beta cell line MIN6 cells, and Zfp507 heterozygous KO (Zfp507+/-) mice, the effect of Zfp507 on gradual differentiation and diabetes were investigated. We checked the alterations of the genes related with pancreatic beta cell differentiation, maturation, and glucose stimulated insulin release response by down regulation of the Zfp507 gene in the MIN6 cells and Zfp507-KD mESCs derived insulin-producing beta cells. Moreover, a decrease in the expression of TGF beta signaling due to a decrease in the expression of the Zfp507 gene during the differentiation process was confirmed. Because of this, the expression of genes associated with beta cell differentiation and the levels of insulin and C-peptide secreted by insulin precursor cells were significantly reduced in differentiated beta cells in Zfp507-KD mESCs compared to those differentiated in WT mESCs. Comparison of Zfp507+/- and WT mice showed that Zfp507+/- mice were defective in glucose homeostasis due to lower serum insulin, pancreatic insulin expression levels and decreased pancreatic beta cell size. These findings suggest that Zfp507 plays an important role in the embryonic stem cell-derived insulin-producing beta cells differentiation and mice glucose homeostasis through TGF beta signaling.

モルフォゲン勾配の頑強性は細胞間張力を介した細胞競合により維持される

* 青木 佳南 (大阪大学 微生物病研究所 生体統御分野), 石谷 太 (大阪大学 微生物病研究所 生体統御分野)

キーワード: 細胞競合, 細胞間張力, Wnt シグナル, アクチン細胞骨格, 細胞間接着

脊椎動物の初期胚では、前後軸に沿った Wnt シグナルの活性勾配が形成され、これがモルフォゲン勾配として働いて前後パターンが形成される。我々は最近、ゼブラフィッシュ初期胚を用いたイメージング解析により、初期胚発生過程において頻繁に Wnt シグナル異常細胞が発生してモルフォゲン勾配が乱れることと、これら異常細胞が隣接正常細胞との細胞間コミュニケーションを介した細胞競合により排除されてモルフォゲン勾配の乱れが修復されることを見出した。また、初期胚では Wnt シグナルが形質膜カドヘリンの安定性を正に制御しており、結果、Wnt シグナル異常細胞では形質膜カドヘリンの量が変化し、この変化を隣接細胞が感知することで細胞競合が起動することも突き止めた (Akieda et al. 2019)。しかし、隣接細胞がいかんしてカドヘリンの量的異常を感知し、競合を起動するかは未だ不明である。本発表では、Wnt モルフォゲン勾配がカドヘリンを介して細胞間張力の強度に変換され、その局所的な変動が細胞競合を起動し、モルフォゲン勾配を修復することを報告する。まず、ゼブラフィッシュ初期胚において Wnt シグナルがカドヘリンを介してアクチン収縮を正に制御し、Wnt シグナル勾配に相関した張力勾配が形成されることと、Wnt シグナルが異所的に増減した異常細胞では、アクチン収縮力も相関して変動することを見出した。Wnt シグナル異常細胞の排除は、張力変動を抑制することで阻害された。さらに Wnt シグナル異常細胞出現時、隣接正常細胞において急速なカルシウムイオンの流入が起こり、このカルシウムイオン流入が異常細胞の感知と排除に寄与していることが分かった。以上のように、局所的な Wnt シグナル異常がカドヘリンの量的異常と張力異常へと変換されることで細胞競合が起動し、モルフォゲン勾配の頑強性が維持されていることが明らかとなった。

小型魚類を用いた脳老化・神経変性疾患の分子メカニズムの解析

* 山中 智行 (新潟大学 脳研究所), 松井 秀彰 (新潟大学 脳研究所)

キーワード: 魚類, 脳老化, 神経変性疾患, パーキンソン病, 凝集体

パーキンソン病やアルツハイマー病などの加齢性の神経変性疾患では、不溶性のタンパク質凝集体の蓄積が共通の病態として観察される。その際、タンパク質凝集体が鋳型 (シード) としてさらなる凝集を誘導し、プリオンのように伝播していくことが、疾患の発症・進行に関わっていると考えられている。しかしながら、最初のシードがどこで形成されどのように細胞間を伝播していくか、また加齢がここにどう関わるかなど、その統合的理解は得られていない。これまで、我々はゼブラフィッシュなどの小型魚類を用いて、遺伝工学的・薬理的にパーキンソン病モデルを作出しその病態機構の解析を行ってきたが、最近、アフリカメダカという脊椎動物で最も寿命の短い生物が、自然発生的にタンパク質凝集やドパミン神経脱落などのパーキンソン病様病態を呈することを見出した。このアフリカメダカでは、脳以外の様々な臓器・組織で老化病態が観察されており、末梢-中枢間での病態伝播という、最近のトレンドを検討する上でも非常に有用な解析システムとなりうる。本学会では、これら疾患モデルを用いた我々の研究のアップデートについて紹介したい。

細胞競合の共通メカニズムと生理的トリガーの遺伝学的探索

* 松本涼 (京都大学大学院生命科学研究科), 菅田浩司 (京都大学大学院生命科学研究科), 川崎あや (京都大学大学院生命科学研究科), 中村麻衣 (京都大学大学院生命科学研究科), 永田理奈 (京都大学大学院生命科学研究科), 越智直孝 (京都大学大学院生命科学研究科), 黄新月 (京都大学大学院生命科学研究科), 奥村歩 (京都大学大学院生命科学研究科), 若狭直樹 (京都大学大学院生命科学研究科), 野口耀司 (京都大学大学院生命科学研究科), 中野吏洋助 (京都大学大学院生命科学研究科), 小林朋絵 (重井医学研究所分子遺伝部門), 松山誠 (重井医学研究所分子遺伝部門), 井垣達吏 (京都大学大学院生命科学研究科)

キーワード: 細胞競合, Msp1, 統合的ストレス応答

細胞競合とは、組織中に生じた変異細胞や異常細胞が周囲の正常細胞との相互作用を介して、敗者として組織から排除される現象である。これまで細胞競合を誘導する数種の遺伝子変異や制御因子が報告されてきた。しかしながら、種々の遺伝子変異により誘導される細胞競合に共通するメカニズムの存在は未だ明らかでなく、また、細胞競合の生理的なトリガーはほとんど分かっていない。本研究では、これらの点を明らかにするべく、ショウジョウバエを用いた遺伝学的スクリーニングを行い、敗者変異(野生型細胞に近接すると細胞競合で排除される変異)を探索した。約 12,000 系統の変異系統ライブラリーを樹立し、その中から 68 系統の敗者変異系統を単離した。次に、各敗者変異が誘導する細胞競合が既知の制御因子 (JNK、転写因子 Xrp1、オートファジー) に依存するか検証し、異なる遺伝子変異によって誘発される細胞競合のシグナル経路の分類を行った。その結果、ほとんどの敗者変異について、JNK または Xrp1 を阻害すると細胞競合が抑制されることが分かった。すなわち、これらのシグナル経路が細胞競合の共通メカニズムである可能性が示唆された。さらに全ゲノム解析により、Xrp1 依存的な敗者変異の責任遺伝子として no mitochondrial derivative (nmd) を同定した。nmd はミトコンドリア外膜に誤送達されたテイルアンカー型タンパク質を外膜から引き抜く AAA+ タンパク質 Msp1 のホモログであり、Msp1 同様ミトコンドリアの品質管理に関わることが考えられる。nmd 変異細胞では統合的ストレス応答 (ISR) が亢進しており、ISR エフェクターである小胞体キナーゼ PERK および転写因子 ATF4 依存的に Xrp1 が誘導されることが分かった。以上の結果から、ミトコンドリアの品質管理異常が細胞競合の生理的なトリガーとなる可能性が示唆された。

GATA6 は LYPD1 遺伝子発現調節を介して抗血管新生作用を制御する

* 増田 信奈子 (東京女子医科大学先端生命医科学研究所), 松浦 勝久 (東京女子医科大学先端生命医科学研究所 | 東京女子医科大学循環器内科), 清水達也 (東京女子医科大学先端生命医科学研究所)

キーワード: 線維芽細胞, 血管内皮細胞, 血管新生

【背景】線維芽細胞は、組織や臓器の構造と機能に寄与しているが、組織間で遺伝子発現に差異があることが明らかになっておりその性質は各臓器で異なっている。我々は以前、心臓線維芽細胞に発現する LYPD1 が、血管内皮細胞の sprouting を抑制する能力を持つことを報告した。LYPD1 はヒトの脳や心臓で高発現していることが知られているが、心臓線維芽細胞における LYPD1 の発現制御についてはこれまで詳細な解明がされていない。

【方法】LYPD1 の発現を制御する転写因子を同定するために、マイクロアレイを用いて皮膚線維芽細胞と心臓線維芽細胞間で発現量の異なる候補遺伝子群を抽出し定量リアルタイム PCR で検証した。各候補因子を siRNA によりノックダウンし、定量リアルタイム PCR により LYPD1 遺伝子発現制御への寄与を検証した。候補因子についてデュアルルシフェラーゼレポーターアッセイを行うとともに、候補因子の発現を抑制したヒト心臓線維芽細胞とヒト臍帯静脈血管内皮細胞との共培養を行い、血管内皮ネットワーク形成を評価した。

【結果】マイクロアレイデータと定量リアルタイム PCR とを用いた解析により、CUX1、GATA6、MAFK が候補転写因子であることが明らかになった。これらの候補転写因子のうち、GATA6 の発現を siRNA で阻害すると LYPD1 遺伝子の発現は低下し、LYPD1 遺伝子の 5' 上流配列を含むレポーターベクターと GATA6 発現ベクターとを共発現させるとレポーター活性が上昇した。また、血管内皮細胞ネットワーク形成は心臓線維芽細胞との共培養により抑制されるが、siRNA で GATA6 の発現をノックダウンした心臓線維芽細胞との共培養では有意に回復した。

【結語】GATA6 は LYPD1 の発現を調節することにより、心臓線維芽細胞の抗血管新生作用を制御している。

細胞数依存的な腫瘍増殖と細胞競合の運命制御

* 西山 真生 (京都大学大学院薬学研究科生理活性制御学分野), 菅田 浩司 (京都大学大学院薬学研究科生理活性制御学分野 | 京都大学大学院生命科学研究科システム機能学分野), 井垣 達史 (京都大学大学院薬学研究科生理活性制御学分野 | 京都大学大学院生命科学研究科システム機能学分野)

キーワード: 細胞増殖, 細胞競合, がん, 悪性腫瘍, 細胞死

ショウジョウバエの複眼原基に頂底極性を制御する *scribble* のホモ変異細胞 (*scrib* 変異細胞) の体細胞クローンを誘導すると, *scrib* 変異細胞は細胞競合によって排除される。一方, *scrib* 変異細胞内で活性型 Ras を過剰発現させた Ras/*scrib* 細胞は浸潤・転移を伴って過剰増殖する。しかし Ras/*scrib* 細胞は野生型細胞との境界で細胞死を起こすことが報告されるなど, その腫瘍形成機構について詳細は明らかではない。我々は最近, Ras/*scrib* クローンを翅原基に一過性に誘導すると野生型細胞との境界で細胞死を起こすことから, Ras/*scrib* 細胞が loser の性質を有することを見出した。さらに, Ras/*scrib* 細胞内で JNK を抑制すると細胞死が抑制されることを発見し, Ras/*scrib* 細胞は *scrib* 細胞と同様に JNK 依存的な細胞競合によって排除される可能性が示唆された。また, Ras/*scrib* 細胞は誘導後経時的にクローン数が減少するが, 生き残ったクローンの面積はむしろ拡大し, クローン面積に依存して Yki 活性が高く検出されたことから, 細胞数依存的に増殖能が亢進し, 腫瘍の排除/増殖が制御される可能性が示唆された。Ras/*scrib* 細胞のクローン面積と増殖能との関係を解析したところ, 大きな Ras/*scrib* クローンでは増殖能が野生型と変わらず, 小さいクローンでは JNK 依存的に増殖が抑制される可能性が示唆された。以上の結果から, Ras/*scrib* 細胞は細胞数依存的に増殖能が亢進し, 細胞数が少ないものは JNK を介した増殖抑制および細胞競合による排除を受ける可能性が示された。

C2C12 筋管細胞への電気刺激によるアセチルコリン受容体発現誘導機構の解析

* 小林篤生 (医療法人友誼会西大和リハビリテーション病院リハビリテーション部), 針生祥平 (名古屋大学医学系研究科総合保健学専攻), 亀高諭 (名古屋大学医学系研究科総合保健学専攻)

キーワード: 機械刺激受容体, C2C12, 筋分化, 機械受容

骨格筋は日常的な身体活動に伴う刺激に応じてその機能や重量を変化させる可塑性に富んだ組織である。この可塑性に大きく関わる刺激の一つとして機械刺激が知られており, 廃用や無重力といった骨格筋への機械刺激が著しく減少する状況では骨格筋は萎縮を呈する。筋細胞においてはインテグリン $\alpha 7 \beta 1$ やジストロフィン糖タンパク質複合体による機械刺激の物理的な受容および伝達機構や知られている。一方で, 機械刺激を細胞膜上で受容しイオンの流入としてシグナルを伝達する機械受容チャネルの役割については不明な点が多く残されている。

我々はマウス筋芽細胞 C2C12 由来の筋管に対する電気刺激系を用いてその応用機序の解析を行ってきた。近年, 電気刺激による収縮に伴い α -bungarotoxin で標識されるアセチルコリン受容体が有意に増加することを確認し, C2C12 筋管細胞を用いて骨格筋への分化過程における神経筋接合部の成熟化の分子機序を解析できる可能性が示唆された。さらにこの現象に関わる上流の機械刺激受容体を調べたところ, 機械受容チャネルの一つとして知られる VRAC (Volume-related anion channel) の必須のサブユニットである LRRC8A (Leucine-rich repeat containing protein 8A) のノックダウンにより, 刺激によるアセチルコリン受容体の増加が阻害された。現時点で LRRC8A が電気刺激を直接受容しているのか, 或いは収縮を介した機械刺激を受容しているのかなどその詳細な機序は不明であるが, 今後 LRRC8A の有無によるカルシウムイオン動体への影響やそれに伴うアセチルコリン受容体の増加への影響に関する検討を行うことで, 筋収縮後の生理的变化における LRRC8A の役割を解明することができると考えられる。

Knockout of LETMD1 induces brain damage and neuroinflammation through ferroptosis.

* Jiwon Ko (School of Life Sciences, BK21 FOUR KNU Creative BioResearch Group, Kyungpook National University, Daegu 41566, Korea), Su-Geun Lim (School of Life Sciences, Kyungpook National University, Daegu 41566, Korea), Zae Young Ryoo (School of Life Sciences, BK21 FOUR KNU Creative BioResearch Group, Kyungpook National University, Daegu 41566, Korea)

キーワード: LETMD1, Ferroptosis, Neuroinflammation, brain, Cell death

Neurological diseases are mainly characterized by the complicated system of neuronal cell death and immune response. Also, many programmed cell deaths destroy brain function and result in morphological abnormalities. Defining and understanding brain disease has become increasingly important, but no clear cause has yet been identified. Exactly which cell death and how it affects it must be determined and classified. LETMD1 domain-containing protein 1 (LETMD1), also known as HCCR-1, is a well-known protein for oncogenic in cancer cells and mainly exists in the mitochondrial inner membrane. For the first time, this study shows that LETMD1 deletion triggers neuronal cell death and eventually affects real brain damage, especially the cerebellum. LETMD1 knockout mice showed significantly lower motor abilities than Wild Type mice in the rotarod test and remarkably decreased memory skills through the y-maze behavioral test. In addition, LETMD1 suppression caused microglial hyperactivation by regulating various inflammatory cytokine expressions (such as IL-6, IL-1 β , and IL-10) in the brain. We demonstrated the correlation between neuronal cell death and inflammation, possibly involving the ferroptosis pathway in vivo and in vitro LETMD1 knockout system. Furthermore, attenuating LETMD1 expression also generates mitochondrial/cellular reactive oxygen species (ROS) and lipid peroxidation. Taken together, these results elucidated that the knockout of LETMD1 increases inflammation and ferroptosis-mediated brain damage.

抗アンドロゲン薬エンザルタミドによるアンドロゲン受容体非依存的な乳がん増殖阻害現象

* 黒岩 由佳 (早稲田大学大学院 先進理工学研究科 生命医科学専攻), 中山 淳 (国立がん研究センター研究所 病態情報学ユニット), 仙波 憲太郎 (早稲田大学大学院 先進理工学研究科 生命医科学専攻), 山本 雄介 (国立がん研究センター研究所 病態情報学ユニット)

キーワード: 乳がん, 抗アンドロゲン薬

抗アンドロゲン薬は前立腺がんの治療薬として広く用いられるが、近年乳がんへのドラッグリポジショニングを目指す研究が進められている。一方で、乳がんにおけるアンドロゲンシグナルの機能にはがん促進的・抑制的双方の見解が存在し、議論が続いている。包括的な理解に繋げるには、乳がんに対する抗アンドロゲン薬の作用を評価する適切なモデルが必要である。本研究では、18種類の乳がん細胞株を対象に、抗アンドロゲン薬エンザルタミドによる増殖抑制効果を評価した。結果として、薬剤抵抗性を示す細胞株を3種類同定し、これら3株に特徴的な遺伝子発現パターンを特定した。興味深いことに、エンザルタミドに感受性を示す細胞株の中には、アンドロゲン受容体 (AR) をほとんど発現していない細胞株も複数含まれていた。そこで、エンザルタミドの特異性を調べる目的で AR ノックアウト細胞を作製してエンザルタミド処理を行い、増殖が抑制されることを見出した。さらに、エンザルタミドと同様に AR を競合的に阻害する他の抗アンドロゲン薬では、AR 発現細胞の増殖は抑制されなかった。以上のことから、エンザルタミドは他の抗アンドロゲン薬にはないユニークな作用機序を持ち、AR 以外の何らかの因子を介して乳がんの増殖を阻害すると考えた。次に、エンザルタミドの未知の作用機序を明らかにする目的で、薬剤処理した乳がん細胞株の遺伝子発現解析を行った。その結果、薬剤処理により DNA 複製に関与する遺伝子の発現が低下することが分かった。また、免疫染色の結果、エンザルタミド処理により核の異形成率が顕著に上昇することを見出した。以上の結果を踏まえ、エンザルタミドは DNA 複製を阻害することで乳がんの増殖を抑制することが示唆された。

KBG 症候群関連タンパク質 ANKRD11 は、タンパク質の翻訳効率を高めることで細胞増殖を促進する

* 指山 祥子 (山口東京理大薬), 中川 直 (山口東京理大薬 | 東北大院医), 野田 泰裕 (山口東京理大薬), 細井 徹 (山口東京理大薬)

キーワード: ANKRD11, KBG 症候群, 翻訳, 細胞増殖, 神経細胞

背景: 神経発達異常と骨格異常を特徴とする KBG 症候群の半数以上で *ANKRD11* ヘテロ欠損変異が発見されている。また近年、KBG 症候群患者における *SETD5* のヘテロ欠損変異が報告されている。私たちの研究室では *SETD5* が神経細胞の増殖に関わっていることを報告しており、*ANKRD11* が同様の機能を果たしているか解析を行った。

結果: *SETD5* の結合タンパク質を網羅的に解析したところ、*ANKRD11* が同定された。以前、私たちは、*SETD5* が rRNA を増加させ、翻訳活性、細胞増殖活性を惹起することを報告している。そこで *ANKRD11* の機能を調べるために、*Ankrd11* が欠損した Neuro-2a 細胞を作成した。その結果、*Ankrd11* ヘテロ欠損細胞では *SETD5* の転写量の低下がみられた。また、*Ankrd11* ヘテロ欠損細胞では rRNA 量が減少し、それに伴う翻訳活性の減少が観察された。さらに、*Ankrd11* ヘテロ欠損細胞の増殖率は WT と比較して低下していることが明らかになった。*ANKRD11* にタグをつけた発現ベクターを作成し、Neuro-2a 細胞に発現させて細胞内局在を観察したところ、核内に凝集していることが確認された。

考察: *ANKRD11* は *SETD5* の発現量を調節することによって、rRNA の転写を増加させ、翻訳活性を高めることで神経細胞増殖に関与することが示唆された。従って、ヘテロ欠損変異を有する KBG 症候群患者では rRNA の転写の減少により細胞増殖が抑制されることで神経発達障害に関与していると考えられる。今後は、どのように *ANKRD11* が rRNA の発現に関与しているか検討していきたい。さらに今後、*ANKRD11* がどのような核内構造体に存在するか明らかにしていきたい。

ヒストン脱アセチル化酵素 HDAC3 による神経突起制御

* 中川 直 (山口東京理科大学 | 東北大学大学院医学系研究科), 松原 永佳 (山口東京理科大学), 細井 徹 (山口東京理科大学)

キーワード: 神経突起伸長, ヒストン脱アセチル化酵素

【背景】ヒストン脱アセチル化酵素 HDAC は、酵素活性が異なる約 20 種類のタンパク質から構成され、そのほとんどが遺伝子発現制御に関与する。非特異的 HDAC 阻害薬は、学習・記憶の増強、脳損傷からの回復、恐怖記憶の消去など、様々な認知プロセスに対して有益な効果を示すことが知られている。しかし、これらの現象の背景にある遺伝子発現の変化や細胞レベルの表現型変化などの分子・細胞メカニズムはまだ十分に解明されていない。

【結果】私達はヒストン脱アセチル化酵素活性が特に高い HDAC に着目し、CRISPR/Cas9 システムを用いてこれらの HDAC ノックアウト神経細胞を作製した。その結果、HDAC3 ノックアウト細胞で顕著な神経突起伸長の増大が観察された。この観察の背景となる遺伝子発現変化を明らかにするため、HDAC3 ノックアウトおよび野生型細胞の網羅的な遺伝子発現解析を実施した。特に神経突起伸長に関わる遺伝子の発現変化に着目したところ、HDAC3 ノックアウトにより最も発現量が増加する遺伝子として *Rnd1* が同定された。

【結論】*Rnd1* は恒常的活性型の低分子 G タンパク質であり、過剰発現により神経突起伸長を促進することが報告されている。そのため、*Rnd1* の発現量増加に伴う神経突起伸長の増加が、HDAC 阻害剤による脳機能の促進に関与していることが示唆された。

14:45-16:15 (2023-06-30 14:45 - 16:15 | ポスター会場)

P - D3 - P001 - 025

Treatment of lipolysis-stimulated lipoprotein receptor (LSR) antibody with HDAC inhibitors promotes apoptosis in human salivary duct adenocarcinoma

* Soshi Nishida (Department of Cell Science, Research Institute for Frontier Medicine, Sapporo Medical University School of Medicine, Sapporo 060-8556, Japan | Department of Otolaryngology, Sapporo Medical University School of Medicine, Sapporo 060-8556, Japan), Masaya Nakano (Department of Cell Science, Research Institute for Frontier Medicine, Sapporo Medical University School of Medicine, Sapporo 060-8556, Japan | Department of Otolaryngology, Sapporo Medical University School of Medicine, Sapporo 060-8556, Japan), Kizuku Ohwada (Department of Otolaryngology, Sapporo Medical University School of Medicine, Sapporo 060-8556, Japan), Takumi Konno (Department of Cell Science, Research Institute for Frontier Medicine, Sapporo Medical University School of Medicine, Sapporo 060-8556, Japan), Takayuki Kohno (Department of Cell Science, Research Institute for Frontier Medicine, Sapporo Medical University School of Medicine, Sapporo 060-8556, Japan), Akito Kakiuchi (Department of Otolaryngology, Sapporo Medical University School of Medicine, Sapporo 060-8556, Japan), Kazufumi Obata (Department of Otolaryngology, Sapporo Medical University School of Medicine, Sapporo 060-8556, Japan), Makoto Kurose (Department of Otolaryngology, Sapporo Medical University School of Medicine, Sapporo 060-8556, Japan), Kenichi Takano (Department of Otolaryngology, Sapporo Medical University School of Medicine, Sapporo 060-8556, Japan), Takashi Kojima (Department of Cell Science, Research Institute for Frontier Medicine, Sapporo Medical University School of Medicine, Sapporo 060-8556, Japan)

キーワード: salivary duct adenocarcinoma, LSR, HDAC

Lipolysis-stimulated lipoprotein receptor (LSR), a lipid metabolism-related factor localized in tricellular tight junctions (tTJs), plays an important role in maintaining the epithelial homeostasis. LSR is highly expressed in well-differentiated cancers, and its expression decreases during malignancy. The LSR antibody inhibits the cell growth and promotes apoptosis in some cancers. Furthermore, histone deacetylases (HDACs) are thought to play a crucial role in carcinogenesis and HDAC inhibitors promote differentiation and prevented cell proliferation and migration in cancers. HDAC inhibitors with TNF α also induce apoptosis via TNF α -related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) in some cancers. In this study, we investigated the immunomodulatory roles of an anti-LSR antibody in human salivary duct adenocarcinoma (SDC) cell line A253 cells, compared to TRAIL induced apoptosis. A253 cells were treated with 100 μ g/ml human recombinant TNF α with or without HDAC inhibitors trichostatin A (TSA) and quisinostat (JNJ-26481585) at 10 μ M. Treatment of TNF α with HDAC inhibitors markedly induced apoptosis in A253 cells. We prepared an antibody against the extracellular N-terminal domain of human LSR (LSR-N-ab). A253 cells were treated with or without 100 μ g/ml LSR-N-ab with or without HDAC inhibitors TSA and JNJ at 10 μ M. Treatment of HDAC inhibitors induced LSR expression at the membranes. Treatment of LSR-N-ab with HDAC inhibitors markedly promoted apoptosis in A253 cells. The tricellular signaling pathway JNK inhibitor SP600125 (SP60) prevented the apoptosis induced by treatment with LSR-N-ab and HDAC inhibitors. LSR-N-ab with HDAC inhibitors may be useful for therapy of human SDC via enhanced apoptosis.

14:45-16:15 (2023-06-30 14:45 - 16:15 | ポスター会場)

P - D3 - P001 - 026

肝臓由来細胞の多核化の長時間タイムラプス観察による解析

* 佐伯俊彦 (群馬大学大学院 理工学府分子科学部門), 木村春香 (群馬大学大学院 理工学研究科), 秋元太陽 (群馬大学理工学部)

キーワード: 肝細胞, 多核細胞, 多倍体細胞, ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤

ラットでは離乳期に細胞質分裂不全で肝細胞が多核化する。しかし多核化と肝機能との関係はいまだに明らかではない。近年、多核肝細胞の割合が高い肝臓では肝細胞癌の症状が軽く予後が良好であると報告された。つまり多核肝細胞を増やせば肝細胞癌を抑制したり予後を改善することができることになる。我々は正常ラット肝臓から単離されたラット肝臓幹様細胞 (HSL 細胞) をヒストン脱アセチル化酵素阻害剤 (HDACi) で 1 日処理したあとニコチンアミド (NA) 存在下で 2 日間培養することで多核 HSL 細胞を誘導する系を確立した。だが誘導された多核 HSL 細胞は 10-15% であった。より多くの細胞を多核化するためには多核化機構を詳しく調べる必要がある。

HSL 細胞でも p21 は HDACi で発現誘導されるため、HDACi 処理によって細胞周期が同調すると考えられる。離乳期のラットでも肝細胞の増殖が一過的に低下していることから、細胞周期の抑制が HSL 細胞の多核化に関与する可能性がある。そこでタイムラプス観察によって、細胞周期の同調と多核化の関連を確かめようと考えた。

我々はカバーガラスで作成したチャンバーに細胞を撒き、それをアルミ板で囲ったスライドガラスに乗せて全体をプラスチックケースに入れ、アルミ薄膜製ヒーターで 37°C に保温した。これにより、HSL 細胞を顕微鏡下で 1 週間以上タイムラプス観察し続けることに成功した。得られた画像から分裂期に入った細胞を時間を追って探すと、HDACi を NA に交換してから約 11 時間前後に分裂する細胞群があった。細胞周期が同調したと考えられるこの細胞群の 23.5% が細胞質分裂不全により多核化した。一方 6 時間後までに分裂した細胞群もあり、多核化した細胞は 25.0% であった。以上のことから HDACi による多核 HSL 細胞誘導に細胞周期の同調は必須ではないことが示唆された。

Role of phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate in cellular senescence of lung epithelial cells

* Imen Jebri (Tokyo University of Science), Rikuto Furuishi (Tokyo University of Science), Kaori Kanemaru (Tokyo University of Science), Yoshikazu Nakamura (Tokyo University of Science)

キーワード : Phosphoinositides, Cellular senescence, Cell membrane, Epithelial cells

Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate (PIP2) is a phospholipid that is mostly found in the inner leaflet of the cell membrane. It serves as a substrate for phospholipase C leading to the formation of second messengers inositol 1,4,5-trisphosphate and diacylglycerol, which in turn activate intracellular signaling pathways that regulate cell growth and division. In addition, PIP2 is phosphorylated by class I phosphoinositide-3 kinase to generate phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate, an important signaling lipid that regulates cell proliferation, survival, and migration. PIP2 also regulates the functions of various proteins, including actin-, endocytosis-, and exocytosis-regulating proteins.

Previously, we demonstrated that plasma membrane PIP2 (PM PIP2) is critical for maintaining epithelial characteristics in human keratinocytes. In this study, we discovered that depletion of PM PIP2 triggered several features of cellular senescence in A549 lung epithelial cells. These features included increased senescence-associated beta-galactosidase activity and the cessation of cell proliferation. Furthermore, PM PIP2 was decreased when cellular senescence was induced by treatment with DNA damage-inducing reagents. Finally, we discovered that PM PIP2-depleted cells displayed hyperfused mitochondria, a characteristic commonly found in senescent cells. These findings strongly suggest that PM PIP2 is involved in regulating the cellular senescence of lung epithelial cells.

In conclusion, our research suggests a potential role of PM PIP2 in regulating cellular senescence. The identification of this potential therapeutic target might have significant implications for developing new treatments for aging-related diseases such as idiopathic pulmonary fibrosis.

クルクミン類縁体による HSP70/HSP40 の機能阻害ががん幹細胞画分に与える影響

* 鈴木 麻弥 (秋田大学大学院医学系研究科 分子病態学・腫瘍病態学講座), 大森 泰文 (秋田大学大学院医学系研究科 分子病態学・腫瘍病態学講座)

キーワード : cancer stem cell (CSC), heat shock protein (HSP), 分子シャペロン, クルクミン, ストレス応答

がん幹細胞 cancer stem cell (CSC) は強い治療抵抗性を示すため、がん根治には CSC を標的とした治療が必須であると考えられる。CSC は低酸素など強いストレスを受けている画分であり、細胞死回避のため heat shock protein (HSP) が高発現していることが一般的に知られている。天然化学物質クルクミンの類縁体 GO-Y030 は高い抗腫瘍活性を示すが、CSC への影響は不明な点が多い。今回、GO-Y030 が HSP の機能や CSC の自己複製能に対しどのような効果を示すのか検討した。まず GO-Y030 が HSP リフォールディング機能に与える影響を調べるため、ルシフェラーゼを恒常的に発現したがん細胞株を用い、細胞加熱により失活したルシフェラーゼの HSP による再活性化を測定したところ、GO-Y030 は再活性化を有意に抑制した。さらに無細胞系にて GO-Y030 が HSP70/HSP40 による不活化ルシフェラーゼの再活性化を効率的に阻害することを示した。次に HSP70/HSP40 の構成的基質であるカルボキシル化 α -ラクトアルブミンを作製し HSP との結合能を調べた結果、GO-Y030 は HSP70 および HSP40 と基質との結合を有意に阻害した。最後に数種のがん細胞株を用いて CSC sphere-forming assay を行ったところ GO-Y030 は有意に CSC sphere 形成能を阻害した。この一連の実験において既知の HSP70 阻害剤でも同様の結果が得られた。

HSP はタンパク質の品質管理を行い、環境ストレスから細胞を防御する。CSC 内の不良タンパクを HSP によりリフォールディングすることは生存に重要と考える。GO-Y030 は HSP70 および HSP40 と基質との結合を阻害することで CSC のストレス適応応答能を低下させ、細胞死を高め、CSC 画分の減少に寄与することが示唆された。

14:45-16:15 (2023-06-30 14:45 - 16:15 | ポスター会場)

P - D3 - P001 - 029

pRB の FRET センサーの開発と G1/S 遷移機構の単一細胞解析

* 中島 早智也 (名古屋大学 理学部 生命理学科 | 自然科学研究機構 生命創成探究センター 定量生物学研究グループ | 基礎生物学研究所 細胞生物学領域 定量生物学研究部門), 後藤祐平 (自然科学研究機構 生命創成探究センター 定量生物学研究グループ | 基礎生物学研究所 細胞生物学領域 定量生物学研究部門 | 総合研究大学院大学 生命科学研究所 基礎生物学専攻), 向井正哉 (自然科学研究機構 生命創成探究センター 定量生物学研究グループ | 基礎生物学研究所 細胞生物学領域 定量生物学研究部門 | 総合研究大学院大学 生命科学研究所 基礎生物学専攻), 青木一洋 (自然科学研究機構 生命創成探究センター 定量生物学研究グループ | 基礎生物学研究所 細胞生物学領域 定量生物学研究部門 | 総合研究大学院大学 生命科学研究所 基礎生物学専攻)

キーワード: 細胞周期, RB, FRET, E2F, バイオセンサー

細胞は外部の環境や細胞の状態に応じて増殖、分裂するかしないかを決定している。これは、細胞周期進行を制御するチェックポイント機構が存在することで実現されている。G1/S 期チェックポイントでは、retinoblastoma protein (pRB) が転写因子 E2F と結合・阻害し、G1/S 期移行に必要なタンパク質の遺伝子発現を抑制することで細胞を G1 期に停留させる。細胞が増殖シグナルを受けると、pRB はサイクリン依存性キナーゼ (CDK) によってリン酸化され、E2F と解離して抑制を解除することで S 期への進行が誘導される。pRB の制御機構はこれまで精力的に研究されてきたが、いつどのようにして pRB が G1/S 期移行という離散的な運命決定を行うのかということについては十分には明らかにされていない。

我々は、一細胞レベルで pRB の活性動態を測定するための蛍光バイオセンサーを開発し、この問題に取り組んだ。pRB の E2F の結合や CDK によるリン酸化は、pRB の構造変化を伴うことが予想されたため、この構造変化を検出する蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) バイオセンサーを設計した。このバイオセンサーを HeLa 細胞に発現させたところ、細胞周期の進行に伴った FRET 効率の変化が観察された。さらに、pRB センサーを発現する MCF-10A 細胞のタイムラプスイメージングを行ったところ、pRB センサーの動的な挙動は細胞ごとに不均一であり、興味深いことに、細胞分裂直後の pRB センサーの挙動は、その後の細胞運命 (細胞周期を停止するか進めるか) とよく相関することを見出した。この結果は、G1/S 期チェックポイントが母細胞の G2 期から M 期に存在するという報告と一致している。本発表では、この pRB センサーを用いた G1/S 期移行の分子機構の解析について進捗を報告し議論したい。

14:45-16:15 (2023-06-30 14:45 - 16:15 | ポスター会場)

P - D3 - P001 - 030

Apicobasal の極性を制御する EHBP1L1 は赤芽球や筋肉の核の極性化に必須である

* WU JI (大阪大学医学系研究科細胞生物学)

キーワード: 赤芽球脱核, EHBP1L1, 極性

タンパク質と細胞小器官の非対称な分布である細胞極性は恒常的または一時的に形成され、多くの生理現象において重要な役割を果たしている。細胞核は様々な種類の細胞で非対称的に局在している。例えば哺乳動物の赤血球生成過程では、細胞と核の極性がダイナミックに形成されている。EHBP1L1 は、リサイクリングエンドソームに局在し、極性上皮細胞の apical 輸送を調節するアダプタータンパク質である。しかし、上皮以外の細胞での EHBP1L1 の役割は不明である。本研究では、EHBP1L1 を欠損すると核極性に異常が生じ、最終赤血球生成時に脱核ができないことを明らかにした。さらに、EHBP1L1 関連タンパク質である Rab10、Bin1、dynamin が赤芽球の脱核に関与していることを明らかにした。また、EHBP1L1 は骨格筋細胞の核とミトコンドリアの適切な局在に必要であることも明らかにした。本研究では、EHBP1L1 が様々な種類の細胞や器官の極性において重要であることが示唆されている。

14:45-16:15 (2023-06-30 14:45 - 16:15 | ポスター会場)

P - D3 - P001 - 031

ショウジョウバエを用いた生理的細胞競合の解析

* 中村麻衣 (京都大学大学院生命科学研究科), 丸山 博之 (京都大学大学院生命科学研究科), 井垣 達史 (京都大学大学院生命科学研究科)

キーワード: 細胞競合, ショウジョウバエ, 個体老化

細胞競合とは、細胞間の相互作用を介した細胞排除現象である。例えば、生体内に変異細胞が生じた際、変異細胞 - 正常細胞間の相互作用を介して変異細胞が排除されることで組織恒常性が維持されると考えられる。ここ 20 年ほどで細胞競合の分子機構の解析が進展し、そのメカニズムが明らかになりつつある。しかし、細胞競合研究の多くは、生体組織内に種々の遺伝子のホモ接合変異細胞クローンを人為的に誘導して行われており、生体内で実際に細胞競合が起きているのか、またその生理的役割については未だほとんどわかっていない。興味深いことに、ショウジョウバエではごく稀に体細胞組換えが自然発生し、染色体が部分的にホモ接合になる細胞が生じることが報告されている。我々はこの現象に着目し、ショウジョウバエ生体内において体細胞分裂時に偶発的に生じた部分染色体ホモ接合細胞を GFP で標識する系を用いて、ホモ接合細胞の自然発生とその細胞運命を解析した。その結果、3 齢幼虫の腸において、生理的な体細胞組換えによって生じた部分染色体ホモ接合細胞が細胞競合によって組織中から排除されることを示唆するデータを得た。さらに、ショウジョウバエの加齢に伴って起こる細胞競合とその個体老化における役割を明らかにするために、ショウジョウバエ成虫の腸を用いて解析を進めており、併せて報告したい。

14:45-16:15 (2023-06-30 14:45 - 16:15 | ポスター会場)

P - D3 - P001 - 032

Hippo 変異が駆動するスーパーコンペティションの遺伝学的解析

* 藤本咲紀 (京都大学生命科学研究科), 永田理奈 (京都大学生命科学研究科), 近藤周 (東京理科大学先進工学部), 齋藤都暁 (国立遺伝学研究所), 井垣達吏 (京都大学生命科学研究科)

キーワード: スーパーコンペティション, 細胞死, オートファジー, TOR, 細胞競合

細胞競合とは、細胞間相互作用を介した細胞の排除現象である。例えば、単独では生存可能な変異細胞が正常細胞に近接すると細胞死を起こして排除されたり、逆にがん原性変異細胞が近接する正常細胞に細胞死を誘導して排除したりする（後者はスーパーコンペティションとよばれる）。がん抑制経路である Hippo 経路の変異細胞は、転写共役因子 Yki/YAP が活性化することで増殖を亢進する一方で、周囲の正常細胞に細胞死を誘導するスーパーコンペティションを引き起こす。我々はこれまでに、ショウジョウバエ上皮に誘導した Hippo 変異細胞では Yki のターゲットである miRNA *bantam* を介して TOR シグナルが活性化し、これが周囲の正常細胞のオートファジー依存的な細胞死を引き起こすことを見出した。また、この周囲の正常細胞で引き起こされる細胞死が Hippo 変異細胞による腫瘍形成に必要であることも明らかにした。しかし、TOR シグナルの活性化が周囲の正常細胞にオートファジーを誘導するメカニズムや、正常細胞の細胞死が Hippo 変異細胞の腫瘍形成を引き起こすメカニズムはいまだ不明である。本研究ではこれらを明らかにするため、Hippo 経路のコンポーネントの一つである細胞膜タンパク質 *fat* の変異細胞を用いて、スーパーコンペティションを制御する因子の遺伝学的スクリーニングを行った。具体的には、*fat* 変異細胞の周囲の正常細胞のみに CRISPR-Cas9 による一連のノックアウト変異をホモ接合に誘導し、Hippo 変異誘導性の腫瘍形成が抑制される系統を探索した。その結果、複数のサプレッサー系統の同定に成功した。本発表では、遺伝学的解析から得られた結果からスーパーコンペティションにおけるオートファジー誘導メカニズムと腫瘍形成メカニズムについて議論したい。

14:45-16:15 (2023-06-30 14:45 - 16:15 | ポスター会場)

P - D3 - P001 - 033

Lysosomal activity fluctuation in NSCs in the brain

* ZHANG HE (京都大学生命科学研究科)

キーワード: lysosome, neural stem cell, Alzheimer's disease, neurogenesis

The regenerative potential of neural stem cells (NSCs) in the brain declines during aging. Lysosomes play an important role in the NSCs; however, the relationship between lysosomal activity and the regenerative potential of NSCs has yet to be fully elucidated. Using transgenic mice expressing lysosomal probes to monitor lysosomal protein degradation in vivo, we investigated lysosomal activity in the dentate gyrus (DG) of the hippocampus with different age and Alzheimer's disease model mice. Our results revealed that the fluctuation of lysosomal activity in NSCs depends on age and disease. In addition, we found that physical exercise by voluntary running altered lysosomal activity in the DG. Our study provides insights into the relationship between neurogenesis and lysosomes.

14:45-16:15 (2023-06-30 14:45 - 16:15 | ポスター会場)

P - D3 - P001 - 034

動物 iPS 細胞を用いた哺乳動物の新奇性・多様性の発生進化研究

* 今村 公紀 (京都大学ヒト行動進化研究センター)

キーワード: iPS 細胞, 発生進化, 哺乳動物, 霊長類, 分化

iPS 細胞といえば「再生医療」や「創薬」を連想されることが多いが、iPS 細胞技術の活用は医学に限定されるものではない。iPS 細胞の特性を端的に表すと、①僅かな細胞試料から比較的容易に作製可能、②半永久的な増殖と保存が可能、③発生現象を培養下で再現可能、④遺伝子改変による機能解析が可能、の4点を併せもつ培養細胞であり、技術的には「任意の動物種・細胞系譜の発生現象を培養下で再構成し、そのプロセスを観測または細胞そのものを入手するためのツール」と定義付けることができる。iPS 細胞がもつこの技術的特性は発生進化研究との相性が良く、とりわけ個体数やサンプリング、侵襲実験、遺伝子改変などに制限の多い希少な動物種において有用性が高い。こうした背景を踏まえ、私たちは様々な霊長類種の iPS 細胞を作製し、分化誘導系を利用した種間比較解析によってヒト特異性の解明を試みる「幹細胞ヒト進化生物学」に取り組んできた。また、本コンセプトを哺乳動物全般に拡張した「動物園まるごと iPS 細胞化プロジェクト」や古代人に拡張した「縄文人 iPS 細胞プロジェクト」も進めている。本大会では、動物 iPS 細胞を用いた様々な哺乳動物の新奇性と多様性の発生進化研究の可能性を共有することで、動物細胞リソースや技術の活用を場を挙げたいと考えている。

大腸がん細胞株の増殖性に L- アスコルビン酸が与える影響

* 鞠子 貴幸 (千葉工業大学大学院先進工学研究科生命科学専攻), 松井 常勝 (千葉工業大学大学院先進工学研究科生命科学専攻), 黒崎 直子 (千葉工業大学大学院先進工学研究科生命科学専攻)

キーワード: 大腸がん細胞, 細胞増殖, L- アスコルビン酸, 細胞周期

1. 緒言

大腸がんは、現在我が国において最も罹患数の多いがんであり、腺腫と呼ばれる良性のポリープががん化して発生するものと正常な粘膜から直接発生するものに大別される。L- アスコルビン酸は先行研究によりがん細胞を傷害することが知られている。L- アスコルビン酸の作用機序は細胞内に取り込まれると過酸化水素を発生させ細胞を傷害するが、具体的な作用機序は解明されていない。そこで本研究では大腸がん細胞株の増殖性と細胞周期に対する L- アスコルビン酸の影響を調べることを目的とする。

2. 実験方法

本研究では、大腸がん細胞株としてヒト結腸癌由来で付着性がある COLO205 細胞を用いて実験を行った。まず L- アスコルビン酸の細胞に対する毒性を調べるために細胞毒性試験を行った。細胞毒性試験では細胞に L- アスコルビン酸をさまざまな濃度で添加して毎日細胞数を計測し生存率を求めた。そして細胞に対する L- アスコルビン酸の CC50 は培養開始後 2 日目に算出した。次に L- アスコルビン酸の細胞周期への影響を調べるために細胞に最終濃度が CC50 の L- アスコルビン酸を添加し、2 日目に細胞を回収して FACS を用いて細胞周期を調べた。

3. 結果および考察

細胞に対する L- アスコルビン酸の毒性を調べた結果 1.25 mM までは 80% 以上の生存率であったが、2.5 mM では 50% 以下となり CC50 は約 2.14 mM であったことから L- アスコルビン酸は濃度依存的に細胞に対して毒性を示すことが示唆された。

次に細胞に対する L- アスコルビン酸の細胞周期への影響を調べるために FACS を行った結果、G0/G1 期の細胞が増加した。このことから L- アスコルビン酸は細胞周期に関わる遺伝子の発現に影響を与えている可能性が示唆された。

今後は G0/G1 期に関わる遺伝子の発現を検討して L- アスコルビン酸が細胞の増殖を抑制する作用機序を解明する予定である。

Controlling dendritic patterning of neocortical excitatory neurons through intracellular organelle dynamics

* 権田裕子 (東京医大・組織神経解剖 | 理研・CDB・大脳皮質発生), 花嶋かりな (早大・教育生物 | 理研・CDB・大脳皮質発生)

キーワード: Golgi apparatus, dendrite, excitatory neuron, neocortex

The neocortex is composed of six neuronal layers, each of which exhibit unique gene expression and morphology. Of these, dendritic pattern is important for determining the connectivity and function of layer subtype neurons. Neocortical excitatory neurons can be divided into two major subclasses. Pyramidal neurons are distributed across all layers and retain a single apical dendrite. In contrast, spiny stellate cells reside predominantly in layer 4 and lack an apical dendrite. To date, little is known about the mechanisms by which the distinct dendritic patterns of layer neurons are established. In this study, we show that an axon guidance molecule, Robo1, plays a critical role in regulating the dendritic patterning of neocortical excitatory neurons. We provide insights into the dynamics of intracellular organelles involved in this process.

細胞競合を駆動する分子機構の遺伝学的解析

* 川崎 あや (京都大学大学院生命科学研究所), 菅田 浩司 (京都大学大学院生命科学研究所), 永田 理奈 (京都大学大学院生命科学研究所), 小林 朋絵 (重井医学研究所 分子遺伝部門), 松山 誠 (重井医学研究所 分子遺伝部門), 井垣 達吏 (京都大学大学院生命科学研究所)

キーワード: 細胞競合, 細胞死, 細胞間コミュニケーション

生体内の同種細胞集団の中で、生体内環境への適応度の低い細胞が細胞間相互作用を介した細胞死誘導によって選択的に排除される現象が存在し、細胞競合と呼ばれている。細胞競合は、例えば単独では生存することが可能な変異細胞が野生型細胞と近接した際に細胞死を起こす現象である。我々を含む複数の研究グループにより、細胞競合を誘導するショウジョウバエ遺伝子変異 (トリガー) としてリボソームタンパク質遺伝子変異 (*Minute* 変異)、apico-basal 極性遺伝子変異、*mahjong* (*mahj*)、RNA ヘリカーゼ (*Hel25E*)、*wolknaeuel* (*wol*) 変異などが報告され、また細胞競合を制御する分子群も明らかになりつつある。しかし、細胞競合の分子機構の全容は未だ不明であり、またその生理的意義もほとんど明らかにされていない。これまで当研究室では、ショウジョウバエ遺伝学を用いて細胞競合のトリガーを網羅的に探索するための大規模なスクリーニングを行い、細胞競合の新規トリガー変異を 87 種類単離することに成功した。さらに我々は、これら 87 種類のトリガー変異を用いて、それぞれの変異が誘導する細胞競合現象がこれまでに報告されている細胞競合制御因子 (ストレスキナーゼ JNK、細胞死関連因子、転写因子 Xrp1、オートファジー) に依存するかを検証し、異なるトリガーが誘導する細胞競合のシグナル経路の分類を行った。その結果、細胞競合は少なくとも 3 種類の分子に依存して実行されることが分かった。興味深いことに、このうちの 6 割以上が Xrp1 に依存して排除されることが分かった。この結果は Xrp1 が細胞競合の普遍的制御分子の 1 つであることを示唆する。しかし、Xrp1 がどのように誘導されるのかは未だ不明である。今回、Xrp1 依存的な細胞競合を誘導する変異系統の責任遺伝子として同定した、がん遺伝子 *Myc* の直接の転写標的であると予想される *CG11563* の変異が誘導する細胞競合をモデルとして、その分子機構の遺伝学的解析を行ったので報告したい。

がんの発生を抑制する組織微小環境の遺伝学的解析

* 中西 與範 (京都大学大学院薬学研究科生理活性制御学分野), 榎本 将人 (京都大学大学院薬学研究科生理活性制御学分野 | 京都大学大学院生命科学研究所システム機能学分野), 井垣 達吏 (京都大学大学院薬学研究科生理活性制御学分野)

キーワード: がん, Ras, JNK, 組織微小環境

腫瘍を取り巻く組織微小環境 (がん微小環境) は、腫瘍細胞の増殖や生存、浸潤・転移を促進することが知られている。その一方で近年、腫瘍の発生を抑制する組織微小環境の存在が明らかになりつつあるものの、その分子メカニズムは不明な点が多い。我々は、ショウジョウバエ幼虫の上皮組織である翅原基において、悪性腫瘍の発生を特異的に抑制するような領域が存在することを見出した。即ち、ショウジョウバエ翅原基に apico-basal 極性遺伝子 *scribble* (*scrib*) のホモ変異とがん遺伝子 Ras の活性化を同時にもつ悪性腫瘍細胞集団 (*scrib^{-/-}/Ras^{V12}* クローン) を野生型細胞とモザイク状に誘導すると、*scrib^{-/-}/Ras^{V12}* クローンは翅原基の大部分の領域において過剰に増殖する一方で、Notum と呼ばれる領域内では腫瘍形成が顕著に抑制されることを発見した。この領域特異的な腫瘍形成の抑制は、良性腫瘍を形成する細胞集団 (Hippo 経路変異や EGFR 活性化) に対しては認められなかった。そこで、翅原基の Notum 領域における *scrib^{-/-}/Ras^{V12}* 悪性腫瘍クローンの抑制機構を解析した結果、Notum 領域外の *scrib^{-/-}/Ras^{V12}* クローンでは腫瘍細胞内で活性化した JNK シグナルが Ras シグナルと協調して Hippo 経路のエフェクター分子である Yki (YAP ホモログ分子) を活性化し過剰増殖するが、Notum 領域内の *scrib^{-/-}/Ras^{V12}* クローンでは JNK 活性が抑制されることで JNK/Ras シグナルの協調が阻害され、細胞増殖能が低下していた。これらの知見は、Notum 領域には腫瘍細胞内における JNK シグナルと Ras シグナルの協調を負に制御することで、悪性腫瘍形成を抑制するような組織微小環境が存在することを示唆している。

細胞競合における JNK 依存的な細胞死誘導を担う因子の同定とそのメカニズム

* 坪野友太郎 (京都大学薬学研究科), John Vaughen (京都大学生命科学研究科), Carmen Siow (京都大学生命科学研究科), 藤井貴輝 (京都大学生命科学研究科), 榎本将人 (京都大学生命科学研究科), 谷口喜一郎 (京都大学生命科学研究科), 井垣達史 (京都大学薬学研究科 | 京都大学生命科学研究科)

キーワード: 細胞競合, scribble, 細胞死

ショウジョウバエ上皮組織において、極性遺伝子 *scribble (scrib)* や *discs large (dlg)* を欠損した極性崩壊細胞は単独では過剰増殖して腫瘍を形成する。一方で、周囲を正常細胞に囲まれた極性崩壊細胞は細胞競合により Eiger/TNF-JNK シグナル依存的に排除される。JNK シグナルの活性化は、極性崩壊細胞の物理的な排除、増殖抑制、及び細胞死誘導をそれぞれ促進することで極性崩壊細胞の排除を促すことが知られている。前者 2 つに関しては当研究室を中心にそのメカニズムが明らかにされてきた一方で、JNK シグナルの活性化がどのように細胞死を誘導するかについては未だ明らかとなっていない。そこで本研究では、染色体欠失系統ライブラリーを用いて、細胞競合による *scrib* 変異細胞の排除を抑制する系統のスクリーニングを行った。同定された染色体欠失系統から遺伝子の絞り込みを行った結果、責任遺伝子として LIM-homeodomain 転写因子をコードする *tailup (tup)/ Islet1* の同定に成功した。*scrib* 変異細胞の排除は、*tup* 変異のヘテロ接合および *scrib* 変異細胞特異的な *tup* ノックダウンにより有意に抑制された。さらなる解析から、Tup は *scrib* 変異細胞において JNK シグナル活性依存的に誘導され、細胞死誘導因子 *hid* の転写上昇を介して細胞死を誘導することが示唆された。

中心体非依存性経路の人為補強による安定なヒト一倍体細胞の作出

* 吉澤 晃弥 (北海道大学 大学院生命科学院), 上原 亮太 (北海道大学 大学院先端生命科学研究院)

キーワード: 倍数性, 細胞分裂, 中心体, 紡錘体

一倍体の動物体細胞は著しい染色体不安定性を示し、短期間で二倍体化してしまう。我々は一倍体状態で発生する中心体喪失が紡錘体を単極化し染色体倍加を引き起こすことを発見したが (Yaguchi *et al.*, 2018, *J. Cell Biol.*; Yoshizawa *et al.*, 2020, *Front. Cell Dev. Biol.*)、この中心体喪失と染色体不安定性の間の因果関係を示す実験的証拠は十分でない。そこで本研究では、分裂制御における中心体要求性がバイパスされるユビキチンリガーゼ TRIM37 欠損株を用いて (Meitinger *et al.*, 2020, *Nature* 等)、この因果関係を検証した。ヒト一倍体 HAP1 細胞の野生株と TRIM37 欠損株の長期培養において、TRIM37 の欠損による顕著な一倍体状態の安定化は見られなかった。この原因を探るために PLK4 阻害により中心体喪失を誘導した一倍体および二倍体の TRIM37 欠損 HAP1 細胞を解析したところ、二倍体では TRIM37 欠損により中心体喪失時にも紡錘体の双極性と染色体安定性が回復されるのに対し、一倍体ではこれらが回復されないことが分かった。興味深いことに TRIM37 欠損一倍体に TRIM37 によるユビキチン化標的因子の一種 CEP192 を強発現すると、PLK4 阻害による中心体喪失時にも紡錘体の双極性および染色体安定性が著しく回復した。さらに同細胞株を長期培養すると二倍体化が顕著に抑制されることが分かった。これらの結果から、一倍体細胞では中心体複製経路の障害だけでなく、CEP192 の遺伝子量不足によって中心体非依存的な分裂制御経路が脆弱化していることが明らかになり、この分子経路の操作が染色体安定性向上の鍵であることを突き止めた。

ダカルバジン耐性メラノーマ細胞の転移能

* 中野 美怜 (東京農工大学 工学府 生命工学専攻), 菅原 梨沙 (東京農工大学 工学府 生命工学専攻), 浅見 京花 (東京農工大学 工学府 産業技術専攻), 斉藤 美佳子 (東京農工大学 工学府 生命工学専攻)

キーワード: マウスメラノーマ, ダカルバジン耐性, 転移

がん患者の薬剤治療の過程で、少量ながら、薬剤耐性の高いがん細胞が生成し、それが予後の再発や転移の原因になる、と推察されている。しかし、がん細胞における薬剤耐性の増強メカニズムは不明な点が多い。我々は転移予防に有効な薬剤開発の観点から、薬剤に対する高い耐性を有する標的モデル細胞が不可欠と考えている。本研究は、薬剤標的モデル細胞として、メラノーマの治療薬であるダカルバジン (DTIC) 耐性を持つ細胞株の樹立とその転移能解析を目的としている。

マウスメラノーマ B16-F10 (F10) に対する DTIC の 50% 細胞致死濃度 (IC50)、80% 細胞致死濃度 (IC80) は、各々 0.125 mM、0.4 mM であった。そこで、この結果に基づき 2 種類の耐性誘導条件を試みた。第 1 は DTIC 濃度を 0.125 mM ~ 0.4 mM の範囲で段階的に上げる方法で耐性株 F10-Res1 を得た。第 2 は、低濃度から誘導する条件で、0.005 mM ~ 0.125 mM の範囲で、段階的に上げて耐性株 F10-Res2 を得た。従来、十分な大きさの耐性の基準として、耐性株に対する IC50 と野生株に対する IC50 の比から算出される相対耐性率 (FR) は 2 以上とされてきたが、F10-Res1、F10-Res2 はこの条件を満たさなかった。そこで、第 3 の条件として、一旦、DTIC 濃度を 0.125 mM まで段階的に上げた後、0.08 mM から順次 0.125 mM まで濃度を上げて培養し F10-Res3 を得た。その結果、F10-Res3 では FR=2.6 となった。そこで、F10-Res3 の転移能に対する影響をインビトロ試験で評価した。その結果、F10-Res3 の増殖能、遊走能はいずれも F10 に比べて増大した。すなわち、F10-Res3 は DTIC 耐性に基づいて転移能が増大した悪性化細胞と推察され、薬剤標的モデル細胞として利用できる見通しを得た。

臓器連関を介したがん抑制型細胞競合の制御機構の解析

* 井原 紫乃 (京都大学薬学部), 掛村文吾 (京大大学生命科学研究科), 井垣達吏 (京都大学薬学部 | 京大大学生命科学研究科)

キーワード: 細胞競合, ショウジョウバエ, 臓器間コミュニケーション, 分泌因子

細胞競合とは、同一組織内に適応度の異なる細胞集団が存在するときに、相対的に適応度が高い細胞が低い細胞を排除する現象のことである。例えば、極性遺伝子 *scribble* (*scrib*) を欠損したショウジョウバエ上皮細胞はがん原性を獲得して過剰増殖するが、周囲に正常細胞が存在するときは細胞死を起こして排除される。このような、がん原性を持つ変異細胞と正常細胞の間で起こる細胞競合は、がん抑制型細胞競合と呼ばれている。がん抑制型細胞競合は、内在的ながん抑制機構として注目されており、これまで競合する *scrib* 変異細胞と正常細胞の間での直接的な相互作用に焦点を当てて研究されてきた。一方で、上皮組織以外の組織から分泌される分泌因子も上皮組織でのがん抑制型細胞競合を制御するという新たな可能性が見出されつつある。そこで、ショウジョウバエをモデル動物として、がん抑制型細胞競合を制御する分泌因子を発見することを目的として研究を行った。特に、ショウジョウバエで多くの分泌因子を産生している脂肪体と血球細胞に注目し、これらから分泌されて上皮組織でのがん抑制型細胞競合を制御する分泌因子を探すためのスクリーニングを行った。その結果、脂肪体と血球細胞でノックダウンすることによって、*scrib* 変異細胞の排除を抑制する分泌因子として *Partner of Bursicon* (*Pburs*) を同定した。*Pburs* の受容体は G タンパク質共役型受容体である *Rickets* (*Rk*) と想定されている。*rk* を上皮組織の *scrib* 変異細胞内でノックダウンしたところ、*scrib* 変異細胞の排除が有意に抑制された。これらのことから、脂肪体または血球細胞より分泌された *Pburs* が、上皮組織の *scrib* 変異細胞に発現している *Rk* に結合してシグナルを伝達することで *scrib* 変異細胞の排除を促進していることが示唆された。

D-Amino Acids, an individual bacterial component, promotes Urothelial cancer cell proliferation, invasion and migration.

* Nesrine Sassi (Graduate School of Medicine, Osaka University), Atsunari Kawashima (Graduate School of Medicine, Osaka University), Akinaru Yamamoto (Graduate School of Medicine, Osaka University), Toshihiro Uemura (Graduate School of Medicine, Osaka University), Yoshiyuki Yamamoto (Graduate School of Medicine, Osaka University), Yu Ishizuya (Graduate School of Medicine, Osaka University), Norio Nonomura (Graduate School of Medicine, Osaka University)

キーワード: D-Amino acids, Cancer cell line, Proliferation, Migration, Invasion

D-Amino acids (D-AA) are the fundamental building blocks in live bacterial cells. Their physiological existence in the human body, has however, long been disputed.

Materials & Methods :

Here we identified pre-operative D-AA levels in serum and tissue of enrolled Urothelial Cancer (UC) patients (n=12) and controls (n=6), by a two dimensional high performance liquid chromatography. In addition, we sought to explore the effect of D-aspartic acid (D-asp), D-asparagine (D-Asn) treated T24 cells, in vitro. WST assay, wound healing assay, and matrigel invasion method were each used to measure the proliferation, migration, and invasion respectively.

Results :

D-Asn ($p < 0.01$) and D-Asp (< 0.05) were found to be significantly higher in serum and cancer tissue respectively, of UC patients. In vitro assays showed that, D-Asp and D-Asn promoted the proliferation of T24 cells with an after 48hr peak ($p=0.04$ and $p= 0.05$ respectively). Both substrates also stimulated cell invasion after 24 hr ($p=0.03$) and 22 H ($p=0.001$) respectively. Only D-Asp (10 μ M), promoted cell migration as the wound healing assay showed after 8 hr assessment ($p=0.006$).

Conclusion :

Herein, both D-Asn and D-Asp may have important roles in regulating cellular processes and could be potential therapeutic targets for a variety of cellular disorders.

TRF1-BTR-AURKB 経路は TRF2 を抑制することで M 期テロメア脱保護を促進する

* 林 眞理** (京都大学大学院医学研究科), Diana Romero Zamora* (京都大学大学院生命科学研究所), Samuel Rogers* (CMRI, University of Sydney, Australia), Ronnie Ren Jie Low (CMRI, University of Sydney, Australia), Alexander Sobinoff (CMRI, University of Sydney, Australia), Scott G. Page (CMRI, University of Sydney, Australia), 石川 冬木 (京都大学大学院生命科学研究所), Hilda Pickett (CMRI, University of Sydney, Australia), Anthony J. Cesare** (CMRI, University of Sydney, Australia)

キーワード: テロメア, 細胞周期, 染色体, M 期, BLM

染色体末端テロメアは、反復 DNA 配列、及び TRF1、TRF2 を含むシェルタリン複合体から成り、末端の 3' 一本鎖が二本鎖リピートに潜り込んで形成する T ループ構造によって DNA 二本鎖切断としての認識を免れている。テロメア DNA やシェルタリンの欠失は、テロメア脱保護を誘導し、DNA 傷害チェックポイントの活性化、染色体融合や細胞死などを引き起こす。加えて我々は、細胞周期 M 期停止により Aurora B (AURKB) 依存的に T ループ構造が失われ、テロメアの脱保護から細胞死に至ることを発見した。この経路は、M 期標的抗がん剤の薬理効果や、細胞のがん化抑制メカニズムの一端であることが示唆されているが、その分子メカニズムは良く分かっていなかった。我々は、RECQ ヘリカーゼファミリーに着目して解析を進め、BTR 複合体の構成要素 (BLM, TOP3A, RMI1, RMI2) を欠損させると、M 期テロメア脱保護が抑制されることを発見した。BLM と TOP3A の酵素活性変異を用いた実験から、BTR 複合体は M 期停止時に T ループに生じるダブルホリデイジャンクション (dHJ) の開裂を促進することが示唆された。これと呼応し、dHJ 形成の抑制能をもつ TRF2 の N 末塩基性ドメインでは、S65 が AURKB によってリン酸化され M 期テロメア保護能を失うことが分かった。一方、すでに報告されていた TRF1 の BLM 結合モチーフが M 期テロメア脱保護に必要であることを確認した。さらに TRF1 の S354,T358 は AURKB によってリン酸化され Survivin (AURKB と複合体を形成) と結合し、これらのリン酸化サイトが M 期テロメア脱保護に必要であることを示した。これらの結果から、TRF1 が BTR 及び AURKB 活性を M 期テロメアに運搬し、TRF2 のリン酸化を促すことで、BTR による T ループ開裂を促進する、というモデルを提唱する。

変異型 RAS 形質転換細胞におけるクロマチン動態の変化

* 大塚 碧 (国立遺伝学研究所 ゲノムダイナミクス研究室 | 総合研究大学院大学 生命科学研究科 遺伝学専攻), 南 克彦 (国立遺伝学研究所 ゲノムダイナミクス研究室 | 総合研究大学院大学 生命科学研究科 遺伝学専攻), 井手 聖 (国立遺伝学研究所 ゲノムダイナミクス研究室 | 総合研究大学院大学 生命科学研究科 遺伝学専攻), 田村 佐知子 (国立遺伝学研究所 ゲノムダイナミクス研究室), Michael J Hendzel (Departments of Oncology and Cell Biology, University of Alberta), 前島 一博 (国立遺伝学研究所 ゲノムダイナミクス研究室 | 総合研究大学院大学 生命科学研究科 遺伝学専攻)

キーワード: 一分子ヌクレオソームイメージング, クロマチン動態, RAS

真核細胞内のゲノム DNA は、ヒストン 8 量体に巻きついてヌクレオソームを形成し、細胞核内に存在している。ヌクレオソームが不規則に折り畳まれたクロマチンの構造や動態は、転写や DNA 修復などの DNA トランスアクションによっても変化することが知られている。がん細胞では、このような DNA トランスアクション活性が上昇していることが多いため、がん細胞におけるクロマチンの動態を調べ、がん細胞以外の細胞と比較することは興味深い。細胞のがん化を引き起こす最も有名ながん遺伝子の一つに RAS がある。RAS の恒常的活性型変異は全がん疾患の約 25% と高頻度に見られ、下流のシグナル伝達経路の遺伝子発現プロファイルを変化させ、がん化を引き起こす。

先行研究により変異型 RAS を形質転換した細胞では、クロマチンの構造や動態が変化すると示唆されている。またがん細胞の転移の際、外部からの物理ストレスに対抗するため、転移性のがん細胞はヘテロクロマチンの量が増え、核の弾性が上がることも知られている。私たちは、マウス胎児由来の 10T1/2 細胞と変異型 H-RAS^{G12V} で形質転換させた 10T1/2 細胞 (CiRAS3 細胞) を用い、染色体の構造や細胞核の形状、体積を解析した。さらに生細胞内の個々のヌクレオソームの動きを可視化できる一分子ヌクレオソーム技術を用いて、変異型 RAS による局所クロマチン動態の変化をヌクレオソーム一分子レベルで観察した。そして、両者のクロマチン / 染色体構造や動態の相違から、変異型 RAS が引き起こす細胞変化を明らかにし、その意義を議論する。

Single-nucleosome imaging/analysis reveals chromatin organization in living human cells.

* 前島一博 (国立遺伝学研究所), 野崎慎 (国立遺伝学研究所), 東光一 (国立遺伝学研究所), 新海創也 (理化学研究所), 岡田康志 (理化学研究所), 井手聖 (国立遺伝学研究所 | 理化学研究所), 飯田史織 (国立遺伝学研究所), 島添将誠 (国立遺伝学研究所), 大浪修一 (理化学研究所), 田村佐知子 (国立遺伝学研究所), 黒川顕 (国立遺伝学研究所)

キーワード: nucleosome, physical nature of chromatin, live-cell imaging, single nucleosome imaging

In eukaryotes, higher-order chromatin organization is spatiotemporally regulated as domains, for various cellular functions. However, their physical nature in living cells remains unclear (e.g., condensed domains or extended fiber loops; liquid-like or solid-like) (1). Using novel approaches combining genomics, single-nucleosome imaging, and computational modeling, we investigated the physical organization and behavior of early DNA replicated regions, which correspond to Hi-C contact domains with active chromatin marks (2). Motion correlation analysis of two neighbor nucleosomes shows that nucleosomes form physically condensed domains with ~150-nm diameters, even in active chromatin regions. The mean-square displacement analysis between two neighbor nucleosomes demonstrates that nucleosomes behave like a liquid in the condensed domain on the ~150 nm/~0.5 s spatiotemporal scale, which facilitates chromatin accessibility. Beyond the micrometers/minutes scale, chromatin seems solid-like, which may contribute to maintaining genome integrity. Our study reveals the viscoelastic principle of the chromatin polymer; chromatin is locally dynamic and reactive but globally stable (2).

1. Maeshima et al. Cold Spring Harbor perspectives in biology (2021)

2. Nozaki et al. Science Adv. in press.

フックス角膜内皮ジストロフィにおける *in silico* での薬剤スクリーニングの検討

* 岡 惟月 (同志社大学 生命医科学部), 奥村 直毅 (同志社大学大学院 生命医科学研究科), 中川 達也 (同志社大学大学院 生命医科学研究科), 今井康太 (同志社大学大学院 生命医科学研究科), Theofilos Tourtas (University of Erlangen-Nürnberg, Department of Ophthalmology), Ursula Schlötzer-Schrehardt (University of Erlangen-Nürnberg, Department of Ophthalmology), Friedrich Kruse (University of Erlangen-Nürnberg, Department of Ophthalmology), 小泉 範子 (同志社大学大学院 生命医科学研究科)

キーワード: 眼科, 角膜, FECD, 薬剤スクリーニング, 細胞外マトリクス

【目的】 フックス角膜内皮ジストロフィ (FECD) は角膜の後面に細胞外マトリクス (ECM) が沈着することによる光の散乱と、角膜浮腫により視力低下を生じる眼疾患である。角膜移植の原因の約 4 割を占め、角膜移植以外の治療法が存在しないため薬物治療法の開発が切望されている。本研究では *in silico* で FECD に対する薬剤のスクリーニングを試みた。

【方法】 FECD 患者より角膜移植時に角膜内皮細胞を取得し RNA-Seq による解析を行った (投稿中)。健常者と比べて発現変動する遺伝子を同定し、L1000FWD、L1000CDS²、SigCom LINCS の 3 つのソフトウェアを用いて、遺伝子発現を正常化させる方向へ作用する薬剤を同定した。同定した薬剤の中から Cercosporin を選択し、FECD モデル細胞を用いて薬剤の添加による ECM 関連遺伝子の発現変化を qPCR により検討した。ウェスタンブロッティングと免疫染色により、フィブロネクチンの発現に対する抑制効果を検討した。

【結果】 L1000FWD、L1000CDS²、SigCom LINCS によりそれぞれ 200、35、76 個の薬剤が同定され、共通して同定されたのは 5 個の薬剤であった。Cercosporin は FECD モデル細胞において *FN1* と *LTBP2* の発現を有意に減少させた。*MATN3*、*COL6A2*、*BGN* および *COL6A1* の発現に有意な変化は認めなかった。ウェスタンブロッティングと免疫染色により、TGF- β 2 により誘導されるフィブロネクチンの発現上昇が Cercosporin により抑制された。

【結論】 FECD 患者由来の角膜内皮組織のトランスクリプトーム解析に基づき *in silico* で薬剤がスクリーニングできる可能性が示された。

Elucidation of the importance of DNA-to-cytoplasm ratio in the mouse pre-implantation embryo

* PAN, Tao (Department of Life Sciences, Graduate School of Arts and Sciences, The University of Tokyo), Natsumi Taira (Department of Biological Sciences, Graduate School of Science, The University of Tokyo), Miho Ohsugi (Department of Life Sciences, Graduate School of Arts and Sciences, The University of Tokyo; Department of Biological Sciences, Graduate School of Science, The University of Tokyo)

キーワード: Mouse preimplantation embryo, DNA-to-cytoplasm ratio, Live-cell imaging

In somatic cells, DNA-to-cytoplasm ratio (D/C ratio) has been shown to be important for proper cellular functions. Notably, In the embryo of *Drosophila* and *Xenopus*, it has been shown that the D/C ratio has been implicated in regulating the timing of zygotic genome activation. Nevertheless, the significance of D/C ratio in early mammalian embryonic development remains unclear.

To elucidate this, in this study, we artificially manipulated ploidy and cell size of mouse embryos, creating various imbalanced D/C ratio models. As a reduced D/C ratio embryo model, we used haploid embryos obtained by parthenogenetic activation of unfertilized eggs. To obtain increased D/C ratio embryos, we conducted in vitro fertilization using histone H2B-EGFP knock-in mice sperms and the eggs in which metaphase II spindle was artificially relocated to the central cellular region. Time-lapse imaging revealed that 2-to-8 cell stage embryos with imbalanced D/C ratio were more prone to errors during mitosis when compared to embryos with balanced D/C ratio. We are currently examining whether these errors result from abnormal chromosome segregation during the first mitosis, and whether they are also evident in other D/C ratio imbalanced embryos, such as double-sized diploid or normal-sized tetraploid.

蛍光タンパク質の内在性タギングにおける二重鎖切断修復経路の影響の検討

* 鄭千遥 (東京大学薬学系研究科生理化学教室), 畠星治 (東京大学薬学系研究科生理化学教室), 馬淵陽 (東京大学薬学系研究科生理化学教室), 北川大樹 (東京大学薬学系研究科生理化学教室)

キーワード: 内在性タギング, ノックイン, CRISPR-Cas システム, DNA 修復

蛍光タンパク質の内在性タギングは、タンパク質の細胞内における局在や動態を可視化・解析するための重要な手法である。近年発展している CRISPR-Cas システムによる遺伝子ノックイン手法は、ゲノムの目的箇所での DNA の二重鎖切断を誘導し、外来 DNA を鋳型とした相同組換え修復 (HR) を引き起こすことで、様々な細胞で内在性タギングを可能にしている。しかし、従来の手法は、ノックイン効率の低さや、外来 DNA が標的部位に不正確に組み込まれてしまうことが問題となっている。その原因として、DNA の二重鎖切断の修復経路には HR の他に NHEJ、MMEJ、SSA などの複数の経路が存在し、HR による修復と競合することが挙げられる。これまでに、NHEJ を阻害することによってノックイン効率が上昇することが示されている一方、他の修復経路がノックインに与える影響については不明な点が多く残されている。

そこで本研究では、ノックイン効率が低いことが知られているヒト正常二倍体細胞を対象とし、CRISPR-Cas システムによる蛍光タンパク質の内在性タギングにおける HR 以外の修復経路の影響を検討した。まず、各修復経路の責任酵素を siRNA によって発現抑制した結果、HR・NHEJ 以外の修復経路も内在性タギングの効率に影響を与えることを見出した。次に、これらの修復経路を簡便かつ効果的に抑制できる特異的な阻害剤を組み合わせることで、複数の修復経路を同時に阻害した。複数の評価系を用いて検討したところ、内在性タギングの効率または正確性が、阻害剤処理によって改善することを見出した。以上より、ヒト正常二倍体細胞を対象とした蛍光タンパク質の内在性タギングに影響を与える複数の DNA 修復経路を明らかにし、これらの経路の阻害剤を用いることで、従来よりも高効率で高精度な蛍光タンパク質の内在性タギング手法の確立が可能であることが示唆された。

染色体融合に起因する微小核は cGAS/STING 経路を活性化しない

* 佐藤 裕樹 (京大大学生命科学研究科 | 京都大学大学院医学研究科 IFOM-KU 国際共同ラボ), 林 眞理 (京都大学大学院医学研究科 IFOM-KU 国際共同ラボ | Chromosome Instabilities Unit, IFOM ETS)

キーワード: 微小核, cGAS/STING 経路, 染色体末端融合, 自然免疫応答

微小核は主核とは別に細胞質中に見られる核状の構造体であり、がん細胞において頻りに確認される。近年、間期における微小核への cGAS 凝集 (interphase-cGAS accumulation to micronuclei: i-CAM) が自然免疫応答の一種である cGAS/STING 経路を活性化することが報告されている。しかし従来の研究では、放射線照射や薬剤処理等の苛烈な条件を用いて微小核を誘導しており、自然免疫応答の活性化がミトコンドリア DNA/RNA 等の微小核以外の核酸に由来することが否定できない。そこで本研究では、生体内で微小核を生じる原因として知られる染色体融合を利用して、cGAS/STING 経路応答を厳密に解析することを目指した。

我々の研究室で開発された、X 染色体特異的な姉妹染色分体融合が生じた細胞の核を蛍光タンパク質 (mCitrine-NLS) により可視化できるレポーター細胞系 (FuVIS) を用い、cGAS の挙動、及び STING 活性化を生細胞解析した。その結果微小核を持つ細胞では、分裂期における微小核由来染色体への特異的な cGAS 凝集 (mitotic cGAS accumulation to micronuclei: m-CAM) が i-CAM より高頻度に確認された。さらに、cGAS 変異体を用いた解析の結果、m-CAM は cGAS のヌクレオソーム結合能に依存していた。また、ゴルジ体への STING 凝集を活性化の指標としたレポーター解析によって、プラスミド導入では確認される cGAS 依存的な STING 活性化が、m-CAM 後の細胞周期では見られないことが明らかになった。

以上から、従来一意的に cGAS/STING 経路を亢進するとされていた微小核への cGAS 凝集は i-CAM と m-CAM に区別され、その大半を占める m-CAM は cGAS/STING 経路を活性化しないことが示唆された。

哺乳類受精卵多核化抑制機構の解明を目指したヌクレオソームビーズの作製

* 角田 達紀 (東京大学 大学院総合文化研究科 広域科学専攻生命環境科学系 大杉研究室), 近藤 興 (東京大学 大学院総合文化研究科 広域科学専攻生命環境科学系 大杉研究室), 大杉 美穂 (東京大学 大学院総合文化研究科 広域科学専攻生命環境科学系 大杉研究室)

キーワード: 染色体, 多核化, KIF, 天然変性領域, 液液相分離

多くの脊椎動物の卵は精子が融合すると、減数第二分裂中期で停止していた減数分裂が再開して後期に入る。分配された卵染色体は核膜に包まれて雌性前核になるが、哺乳類特有の現象として、前核形成までに 2-3 時間かかる。つまり分配後の数十本ある卵染色体は核膜で包まれることなく 1 時間以上放置されるため、その間に染色体が離散して多核となるリスクがある。染色体結合キネシン Kid/KIF22 は分裂中期までは染色体の整列を補助し、後期・終期では脱リン酸化によりはたらきが変わり、分配された染色体を一塊化させることで核を 1 つにまとめている。しかし、Kid が染色体同士を接着させ一塊化する機構は未だに不明である。

Kid はアミノ酸配列から、天然変性領域 (IDR) を持つことが予想されている。IDR を持つタンパク質の多くは液-液相分離 (LLPS) を起こすことから、Kid が染色体表面で LLPS を誘導して染色体を一塊化するという仮説をたてた。当研究室の先行研究において、マウス卵を用いた実験では検証が困難であったことから、本研究では *in vitro* 実験系による仮説の検証を行う。染色体の代替とするために、磁気ビーズ表面に DNA を結合させた DNA-ビーズを作製しマウス未受精卵へ注入したところ、過剰発現させたヒストン-H2B-mRFP の DNA-ビーズ周りへの集積が確認できた。さらに、人為的な活性化刺激を与え雌性前核形成を誘導したところ、低頻度ながらビーズ周りに核移行シグナルを付加した EGFP の集積が確認できた。核膜孔の形成にはヌクレオソーム構造が必要であることから、マウス卵内でヌクレオソームビーズが形成されたことが示唆された。現在は、Kid の部分領域 (IDR) を大腸菌を用いて発現・精製し、DNA-ビーズ、ヌクレオソームビーズとの混合実験に取り組んでいる。

遺伝性疾患 MOPD を軸とした、マイナーイントロンスプライシングによる分裂期中心体の制御機構の解明

* 許珉赫 (東京大学薬学系研究科), 伊藤慶 (東京大学薬学系研究科), 畠星治 (東京大学薬学系研究科), 北川大樹 (東京大学薬学系研究科)

キーワード: MOPD, マイナスプライソソーム, マイナーイントロンスプライシング, 中心体, PCM

MOPD (小頭骨異形成原発性小人症) I、II、III は小頭症、成長障害、聴覚障害といった特徴的な症状を併せ持つ遺伝性の疾患である。MOPD II の原因遺伝子は中心体関連因子 PCNT であり、その患者細胞では、PCM (中心小体を取り囲む不定形の構造体) が分散するという表現型が観察されている。一方で MOPD I の原因遺伝子は RNU4ATAC で、マイナスプライソソームを構成する U4atac という核内低分子 RNA に当たることが知られている。MOPD II とは異なり、MOPD I という疾患の、中心体における表現型と疾患の発症メカニズムについてはまだ不明点が多い。

本研究では、ヒト培養細胞をモデル系として、MOPD I の原因遺伝子 RNU4ATAC 及びマイナスプライソソームの主要因子を抑制したところ、MOPD II の患者同様、分裂期細胞において PCM が分散する表現型を見出した。このような表現型を説明するものとして、マイナーイントロンを配列に含む中心体関連因子を調べたところ、NEDD1 という因子の存在が明らかになった。実際に、マイナーイントロンスプライシングの抑制細胞において、NEDD1 のタンパク質と RNA 量の減少を確認した。そして、RNAi により NEDD1 の発現を抑制すると、マイナーイントロンスプライシング抑制と同様に、PCM の分散が観察された。さらに、NEDD1 の過剰発現で、マイナーイントロンスプライシング抑制による PCM 分散の表現型がレスキューされることが明らかになった。

以上の結果から、MOPD I の患者細胞では、原因遺伝子 RNU4ATAC の変異によりマイナーイントロンスプライシングが正常にはたらかなくなり、NEDD1 の発現が抑制されることで、中心体における異常な表現型が引き起こされるという可能性が示された。

Nuclear condensates of oncogenic protein BRD4-NUT affect chromatin behavior in living human cells

* Adilgazy Semeigazin (Genome Dynamics Laboratory, National Institute of Genetics | Department of Genetics, School of Life Science, SOKENDAI)

キーワード: BRD4-NUT oncoprotein, nuclear condensate, chromatin behavior, gene transcription, single-nucleosome imaging

Authors: Adilgazy Semeigazin, Shiori Iida, Satoru Ide, Saadi Khochbin, Daniel Panne, Kazuhiro Maeshima

BRD4-NUT is a fusion oncoprotein formed by a chromosomal translocation, which commonly occurs in NUT midline carcinoma, a subtype of aggressive human cancer. BRD4-NUT forms nuclear condensates, visible by fluorescence microscopy, that are believed to be involved in oncogenic gene transcription. Nuclear foci of BRD4-NUT physically colocalize with transcriptional proteins, including histone acetyltransferase p300 and hyperacetylated histone H4. How do BRD4-NUT condensates affect chromatin behavior and functions? To study chromatin dynamics in presence of BRD4-NUT condensates, we ectopically expressed BRD4-NUT tagged with EGFP using an inducible system. Specifically, we used oblique illumination microscopy to observe behavior of individual nucleosomes in living human cells expressing BRD4-NUT. We noticed a significant increase in local chromatin motion, which was highly correlated with maturation of condensates. These observations suggest that global changes in histone acetylation caused by BRD4-NUT may alter gene transcription and increase overall chromatin accessibility, providing insight into the potential mechanism of BRD4-NUT-induced oncogenesis.

ヒト四倍体細胞における CEP192 遺伝子量依存的な中心体特性の解明

* 山本 隆博 (北海道大学 大学院生命科学院), 清光 智美 (沖縄科学技術大学院大学), 上原 亮太 (北海道大学 先端生命科学研究院)

キーワード: 全ゲノム倍加, 倍数性, 中心体

全ゲノム倍加 (whole genome duplication; WGD) は固形がんの 3 割に共通する異常だが (Bielski et al., 2018)、WGD に伴う細胞の性質の具体的な変化については不明な点が多い。我々は WGD 細胞で分裂期中心体タンパク質の過剰集積による機能亢進が起こることを発見した (Yaguchi et al., 2018)。本研究ではこの現象の原理を検証し、WGD に特異的な分裂制御の変化を明らかにすることを目的とした。ヒト HCT116 細胞において全ゲノムコピー数と中心体数を独立に操作した際の中心体タンパク質集積の解析から、WGD 細胞における中心体タンパク質の過剰集積が中心体足場あたりのタンパク質プール量の増加により生じることを明らかにした。さらに、オーキシソグロン法を用いた遺伝子量調整実験により CEP192 の遺伝子コピー数変化が WGD と連動した多類の中心体タンパク質の集積量変化の要因であることを明らかにした。この知見をもとに、WGD および元の二倍体 HCT116 において中心体タンパク質集積を負に調整するユビキチンリガーゼ TRIM37 を発現抑制したところ (Meitinger et al., 2021)、WGD 細胞では二倍体に比べて中心体タンパク質過剰集積が重篤化し、中心体タンパク質の異常凝集体形成を通じた紡錘体の多極化が亢進され、WGD 細胞選択的に染色体不安定化や細胞死が引き起こされることが明らかになった。TRIM37 抑制 WGD 細胞で CEP192 の遺伝子量を二倍体レベルに改変すると、異常凝集体による多極分裂の重篤化がキャンセルされた。これらの結果から WGD と連動した CEP192 遺伝子量変化が、中心体タンパク質集積を亢進することで WGD 細胞の分裂制御機構に特有の脆弱性を生み出しており、これを突いた WGD 細胞選択的な攻撃が可能であることが明らかになった。

エクспанジョン顕微鏡により明らかとなったセントロメアーキネトコア構造

* 平野泰弘 (大阪大学大学院生命機能研究科), 平岡泰 (大阪大学大学院生命機能研究科), 深川竜郎 (大阪大学大学院生命機能研究科)

キーワード: エクспанジョン顕微鏡, キネトコア, セントロメア, 超解像顕微鏡

遺伝情報を含む染色体は細胞周期を通じて正確に複製、分配される。キネトコア（動原体）は染色体上のセントロメア領域に形成される構造で、ここに紡錘体微小管が結合することで正確な染色体分配が保障、遂行される。キネトコアは約 100 種のキネトコアタンパク質群がダイナミックに集積して形成されるが、それぞれのキネトコアタンパク質がどのように配向しているかは、超解像顕微鏡によって蛍光顕微鏡の分解能が向上した現在でも明らかになっていない。本研究ではキネトコア構造を高解像に観察するため、試料を 3 次的に 12 倍に拡大して観察可能なエクспанジョン顕微鏡 (ExM) を適用した。拡大した試料を全視野顕微鏡で観察したところ、回折限界サイズの輝点を得ることができたことから、我々の ExM は拡大前に換算すると少なくとも 30nm の水平方向分解能を持つことが明らかになった。これを用いて、細胞周期を通じてセントロメアに結合していることが報告されている構成的セントロメアタンパク質群 (Constitutive centromere associated network) の CENP-T と CENP-C、セントロメアに特異的に局在するヒストン H3 のバリエーションである CENP-A の 3 つのタンパク質の間期、および分裂期の局在を観察した。これらのタンパク質は Image scanning microscopy をベースとした超解像顕微鏡では間期、分裂期とも染色体上の一点として観察されたが、ExM ではそれぞれがいくつかの点像の集まりに分解された像として観察された。すなわち、これらのタンパク質はセントロメア領域に均質に存在するのではなく、不均一に存在していることが考えられた。また、それぞれのシグナルは一部を除いて共局在しなかったことから、これら 3 つのタンパク質はキネトコア上で異なる配置をとっていることが示唆された。

核膜孔による遺伝子発現制御メカニズム

* 羽澤 勝治 (金沢大学), 牧山 桂 (金沢大学), Richard Wong (金沢大学)

キーワード: 遺伝子発現, 核膜孔

ヒトは様々な形や機能をもつ細胞から構成され、これら細胞の形質はゲノム情報をもとに制御される。ヒトを構成する細胞の大きな特徴は核膜で仕切られた核をもつことであり、この核内にゲノム DNA が格納されている。核膜は物理に細胞質と核を分離するだけでなく、核膜に存在する様々なタンパク質が積極的に核膜周縁ゲノムの構造・機能を制御することが明らかにされつつある。

核膜孔は細胞質と核をつなぐ唯一の分子輸送孔であり、30 種類の分子で構成されるタンパク質複合体である。核膜孔は分子輸送のみならず近傍ゲノム構造・機能を調節し、細胞の形質決定に重要な遺伝子発現ネットワークを形成することがわかってきた。とりわけ、核膜孔を構成する分子の一つ NUP153 は、遺伝子発現の活性と抑制の双方に関与する機能を果たすが、この相反する機能を可能にする分子基盤は不明である。また、この過程におけるゲノム配列指向性についても十分に理解されていない。

本研究の目的は、NUP153 が制御するゲノム領域について解析し、核膜孔によるゲノム構造・機能制御機序を理解することである。

外来 DNA 侵入場における細胞質 DNA センサー BAF 及び cGAS の挙動解析

* 小林 昇平 (情報通信研究機構 未来 ICT 研究所 神戸フロンティア研究センター バイオ ICT 研究室), 氏家 加洋子 (情報通信研究機構 未来 ICT 研究所 神戸フロンティア研究センター バイオ ICT 研究室), 福田 紀子 (情報通信研究機構 未来 ICT 研究所 神戸フロンティア研究センター バイオ ICT 研究室), 新井 健太 (情報通信研究機構 未来 ICT 研究所 神戸フロンティア研究センター バイオ ICT 研究室), 森 知栄 (情報通信研究機構 未来 ICT 研究所 神戸フロンティア研究センター バイオ ICT 研究室)

キーワード: BAF, cGAS, exogenous DNA, Bead, DNA sensor

生細胞にとって、細胞内に侵入した外来 DNA を即座に検知し適切な対応をとることは、病原体等から身を守る上で重要である。近年、cyclic GMP-AMP synthase (cGAS) 等の細胞質 DNA センサーが外来 DNA の侵入に対する自然免疫応答のトリガーとして働いていることが報告され、作用機序の解明が進んでいる。しかし、従来研究では、観察対象のプラスミド DNA は非常に小さく、通常の光学顕微鏡では観察困難なため、細胞質に侵入した外来 DNA の存在場所及びその周辺領域 (外来 DNA 侵入場) で起こる細胞内構造の変化や、外来 DNA 侵入場における細胞質 DNA センサーの挙動はほとんど明らかになっていない。

本研究は、観察容易な直径約 3 μm のポリスチレンビーズに直鎖状二本鎖 DNA を結合させた「DNA ビーズ」を外来 DNA のモデルとして用いることで、外来 DNA 侵入場における DNA センサー分子の役割の解明を目指すものである。まず、脂質を用いて DNA ビーズを HeLa 細胞内に導入すると、内在性 cGAS 及び我々がこれまでに見出した DNA センサーである barrier-to-autointegration factor (BAF) の両方がビーズ表面に集積することが分かった。次に、GFP-BAF 及び cGAS-mRFP の二重発現株を用いたタイムラプス観察により、外来 DNA 侵入場における両タンパク質の挙動を解析したところ、細胞質への侵入 (エンドソーム崩壊) からの経過時間によって、両タンパクの動態に違いがあることが分かった。さらに、1,6-hexanediol 処理実験の結果から、外来 DNA 侵入場における cGAS と BAF の存在様式に大きな差があることが示唆された。以上の結果は、細胞質 DNA センサーによる外来 DNA の検知から、自然免疫応答が検出されるまでに細胞質内で起こる現象の理解にとって重要である。

YAP/TEAD を介した負荷依存的なコラーゲン特異的分子シャペロン Hsp47 の発現調節機構の解明

* 葛西綾乃 (京都産業大学生命科学研究科), 伊藤進也 (Center for Molecular Biology of Heidelberg University), 潮田亮 (京都産業大学生命科学部), 永田和宏 (JT 生命誌研究館)

キーワード: Hsp47, コラーゲン, YAP, TEAD

コラーゲンは生体内に最も多く存在するタンパク質であり、様々な組織で細胞外マトリックスの主成分として機能する。コラーゲンに特異的な分子シャペロンである Hsp47 は小胞体に局在し、コラーゲンの合成に必須の役割を担う。Hsp47 の発現異常はコラーゲンの蓄積量や品質に影響を与え、線維化疾患や骨形成不全症など重篤な疾患の原因となる。我々はこれまでに、Hsp47 の発現が組織特異的に制御され、熱ショックに応答することを報告してきた。さらに近年、重力や負荷などの物理的変化に応じた発現制御が示唆されたが、そのメカニズムは不明であった。

細胞は物理的変化を感知すると、転写共役因子 YAP が核内に移行し、転写因子 TEAD と相互作用して下流遺伝子の転写を誘導することが知られている。Hsp47 の負荷応答に YAP や TEAD が関与する可能性を考え、Hsp47 のプロモーター中の TEAD 結合配列の有無を調べたところ、いくつか候補が見つかった。これらの候補配列を Hsp47 のレポーターベクター上で欠失させると、レポーター活性が減少することが分かった。また、YAP/TEAD の結合阻害剤を添加した C2C12 細胞では、Hsp47 の転写が抑制されていた。さらに、尾部懸垂により後肢の筋肉に負荷がかからないようにしたマウスからヒラメ筋を採取し、YAP の制御を解析した結果、YAP の存在量が負荷に応答していることが分かった。これらのことから、Hsp47 は YAP/TEAD を介して負荷依存的に転写調節されることが明らかになった。

Hsp47 の発現抑制はコラーゲンの蓄積を減少させるため、コラーゲンの異常蓄積を特徴とする線維化疾患の治療戦略の一つとなっている。そのため、YAP/TEAD を介した Hsp47 の発現調節は新たな治療ターゲットとなる可能性がある。

血管・脂肪組織由来分泌因子 Favine の機能解析

* 小林 祥子 (大阪大学大学院医学系研究科 内分泌・代謝内科), 加藤恒 (大阪大学大学院医学系研究科内科学講座 血液・腫瘍内科学), 喜多俊文 (大阪大学大学院医学系研究科 肥満脂肪病態学寄附講座), 奥崎大介 (大阪大学免疫学フロンティア研究センター), 藤島裕也 (大阪大学大学院医学系研究科 内分泌・代謝内科), 西澤恭子 (野崎徳洲会病院), 大月道夫 (東京女子医科大学 内分泌内科学分野), 宮下かずや (株式会社 免疫生物研究所), 福原淳範 (大阪大学大学院医学系研究科 肥満脂肪病態学寄附講座), 森井英一 (大阪大学大学院医学系研究科 病態病理学講座), 下村伊一郎 (大阪大学大学院医学系研究科 内分泌・代謝内科)

キーワード: 動脈硬化症, 血管石灰化, 血栓, Favine/CCDC3

動脈硬化に起因する虚血性心疾患や脳血管疾患は総死亡の3割を占め、その発症進展メカニズムの解明と治療法の開発は喫緊の課題である。ヒトの動脈硬化症では石灰化と血栓を伴う脆弱な不安定プラークが心血管死と相関する。しかし、動脈硬化モデルマウスであるアポリポ蛋白質E (ApoE) 欠損マウスではプラークは多発するが、不安定プラークはほとんど認められない。また、肥満や糖尿病患者では動脈硬化症が発症進展することが知られているが、その機序は依然不明な点が多い。私どもは血管と脂肪組織の両者に高発現する因子として CCDC3 (Coiled-coil domain containing 3) /Favine (fat/vessel-derived secretory protein) を同定した。Favine は脂肪細胞の分化と脂肪合成を促進する (Kobayashi et al., BBRC 2010, JBC 2015) が、血管における作用は不明であった。血管における Favine の機能を解析するため、Favine/ApoE ダブルノックアウト (DKO) マウスを作出した。DKO マウスでは ApoE 欠損マウスに比して動脈硬化病変形成の進行を認め、ヒトの不安定プラークと類似の石灰化と血栓形成を認めた。メカニズム解明のため、大動脈の RNA-Seq を行ったところ、Favine 欠損によって MEF2C/KLF2/PAI-1 pathway の遺伝子発現が低下することを見出した。さらに、ヒトの動脈硬化病変においても Favine 遺伝子発現量が低下することが明らかとなった (iScience 2022)。これらの知見から、Favine 欠損や Favine 発現の低下が石灰化と血栓を伴う不安定プラークの形成に関与する可能性が示された。

がん細胞およびがん細胞由来エクソソームの多様性によってもたらされる腫瘍進展機序の時空間的解明

* 濱崎 祐斗 (東京工業大学・生命理工学院 | 東京大学・先端技術研究センター), 星野 歩子 (東京大学・先端技術研究センター)

キーワード: エクソソーム, がん, 膜タンパク質, 細胞間コミュニケーション, 多様性

エクソソームとは、細胞から産生される 30 ~ 150 nm ほどの小胞である。脂質二重膜をもち、タンパク質や脂質、核酸が膜上および小胞内に含まれている。エクソソーム含有物の組成は、産生する細胞の情報を反映していると考えられている。また、細胞間での取り込みが確認されており、細胞間コミュニケーションツールの一つと考えられている。

エクソソームが関わるがん進展機構については近年多数の論文が報告されている。本研究の先行研究では、肺転移性乳がん細胞 (4175 細胞) は膜表面上にインテグリン (ITG) $\alpha_6\beta_4$ という接着タンパク質のペアを多量にもつ (ITG $\alpha_6\beta_4^+$) エクソソームを産生していることを明らかにした。このタンパク質が“郵便番号”としての役割を担い、4175 細胞由来のエクソソームが肺組織に取り込まれることによって、炎症や血管透過性の上昇を引き起こし、がん細胞が転移しやすい様な微小環境に変化させているのである。

本研究では、4175 細胞株を構成する全ての細胞が ITG $\alpha_6\beta_4^+$ エクソソームを同程度産生するのか、もしくは ITG $\alpha_6\beta_4^+$ エクソソーム産生に特化した細胞が存在しているのか、について解析した。エクソソーム一つ一つの表面上に存在するタンパク質を見ると、4175 細胞が産生するエクソソームのうち、ITG $\alpha_6\beta_4$ をもつものは全体の約 10% しか存在しないことがわかった。そこで 4175 細胞を単一細胞ごとに培養し、それぞれの ITG $\alpha_6\beta_4^+$ エクソソーム産生能力を解析した。すると、細胞ごとに産生する ITG $\alpha_6\beta_4^+$ エクソソームの量が異なることが確認された。さらに、各細胞に対して増殖、遊走、創傷治癒能アッセイを行なうと、それぞれの細胞が異なる特性を示した。

これらのことから、4175 細胞はさまざまな特性を持った細胞が集まったものであり、各々が増殖や浸潤、転移といったさまざまな機構に特化した能力をもち、それぞれのステップに特異的なエクソソームを産生することによって周囲の微小環境に影響を与える可能性があることが考えられた。

人工共生系を用いた藻類と魚類の相互作用解析

* 岡部耀二 (東大・新領域・先端生命), 尾田正二 (東大・新領域・先端生命), 園池公毅 (早稲田大・教育・生物), 松永朋子 (東大・新領域・先端生命), 松永幸大 (東大・新領域・先端生命)

キーワード: 共生, 藻類, 単細胞生物, 光合成, 魚類

藻類は地球上のあらゆる環境中に適応している。中でも動物の体内に単細胞性の藻類が共生する「光共生」は、細胞レベルの生物間相互作用による藻類の環境適応現象である。共生藻は宿主体内で光合成を行い、宿主から生息空間や栄養源などを受け取っている。共生藻は主に無脊椎動物や両生類を含む多様な水生動物を宿主とすることが知られている。しかし、同じく水生動物である魚類を宿主とした光共生は全く知られていない。すなわち、自然界では藻類が魚類の体内環境に適応しておらず、その理由もよく分かっていない。そこで、本研究では藻類の環境適応能力の実態を明らかにすることを目的に、実験的に藻類と魚類の共存状態を構築し、どのような生物間相互作用が見られるのかを検証した。

研究材料の共生藻に単細胞緑藻のメダカモ *Medakamo hakoo*、単細胞紅藻のシゾン *Cyanidioschyzon merolae*、宿主にメダカ *Oryzias latipes* を用いた。メダカモとシゾンはそれぞれ緑藻、紅藻として最も単純な細胞構造をもつため、細胞生物学的に共生現象を理解するためのモデルとなりうる。またメダカは卵を大量に高頻度で採取でき、胚が透明なことから発生過程の追跡が容易である特徴をもつ。

これまでにメダカ初期胚の卵黄にメダカモおよびシゾンをインジェクションして人為的な共存状態を構築し、藻類の生存と光合成、メダカの生存と発生に着目して解析を進めてきた。その結果、インジェクションされた藻類はメダカ体内で増殖能を維持し、光合成していた。またメダカは正常に発生し孵化した。さらにシゾンをインジェクションされたメダカは孵化日数が早まった。これらの結果から、藻類は魚類体内に適応し、さらには光共生関係を構築できることが示唆された。

Cell face ID を用いたセルトラッキング

* 谷口 大相 (東京大学ニューロインテリジェンス国際研究機構 (WPI-IRCIN) | 理化学研究所生命機能科学研究センター (BDR)), 犬塚 悠剛 (理化学研究所生命機能科学研究センター (BDR) | 東京大学大学院理学系研究科物理学専攻), 岡田 康志 (東京大学ニューロインテリジェンス国際研究機構 (WPI-IRCIN) | 理化学研究所生命機能科学研究センター (BDR) | 東京大学大学院理学系研究科物理学専攻 | 東京大学大学院医学系研究科細胞生物学教室 | 東京大学大学院理学系研究科生物普遍性研究機構 (UBI))

キーワード: セルトラッキング, cell face ID, バイオイメージング

近年のバイオイメージング技術の進展は目覚ましく、一細胞内部の時間的、空間的な動態が日々新たに解明されている。個々の細胞の経時変化を定量的に解析するためには、各細胞を正確に区別し追跡する手法が必要となる。このために使われるセルトラッキング手法は、これまでに数多くのものが提案され精力的な開発がなされてきた。しかしながら、追跡すべき細胞の密度が高い場合、細胞の形態学的変化が大きい場合、撮影時間間隔が広い場合における正確なセルトラッキングは依然として困難な課題となっている。そこで本研究は、これらの困難な状況下でも使用可能な新しいセルトラッキング手法の開発を目指している。まず、画像内に写っている各細胞の“顔触れ”(特徴)を正確に把握し区別する技術として、各細胞の顔触れ(特徴)を cell face ID として効率よくエンコードする手法を開発した。次に、これを応用して、cell face ID のマッチングによって異なる時刻の画像間で同一細胞を特定し対応付けを行った。本手法では、数理的な工夫を凝らすことで、細胞の非形態学的なアーティファクトに対して頑強な ID マッチングを実現している。本手法は、従来のセルトラッキング手法に比べて、高密度下の細胞の識別能と非形態学的なアーティファクトへの頑強性が大幅に改善されている。そのため、撮影時間間隔をより大きく開けた場合でも正確なセルトラッキングが可能となる。本演題では、この新規トラッキング手法の原理と、様々な実験データへの適用例を報告する。

卵巣がん由来エクソソームを介した組織型別腫瘍促進機構の解明

* 本城麻衣 (東京工業大学・生命理工学院 | 東京大学・先端科学技術研究センター), 佐藤美香 (東京工業大学・生命理工学院), 星野歩子 (東京工業大学・生命理工学院 | 東京大学・先端科学技術研究センター)

キーワード: エクソソーム, がん, 腫瘍進展, 微小環境, プロテオミクス

卵巣癌は婦人科癌の中で最も死亡率が高く予後不良である。卵巣癌の分類には、世界的に多い漿液性癌と日本人に多い明細胞癌があり、組織型ごとに進行の速さや細胞の性質が異なることから抗がん剤の感受性にも違いがあることが知られている。本研究ではエクソソームの視点から各組織型別の卵巣癌進展機構を解明することで、それぞれの問題点に合わせた早期診断法の開発や治療戦略に繋げることを目指している。エクソソームとは全ての細胞から放出される直径 50-150 nm の細胞外小胞でタンパク質や脂質、核酸などを選択的に内包しており、癌や ASD のような疾患にも関連している。本研究では、組織型別に卵巣癌細胞が産生するエクソソームが癌の転移先決定機構等に関わるかどうかを検討するために、まず卵巣癌細胞由来エクソソームのサイズ、細胞あたりに産生するエクソソーム量、および含有タンパク質量について調べた。その結果、エクソソームの漿液性癌や明細胞癌の組織型ごとの違いや卵巣癌と正常卵巣上皮の癌・非癌で有意な差は認められなかった。次に、卵巣癌細胞由来のエクソソームが特定の臓器に取り込まれることで腫瘍進展機構に寄与する可能性について検証した。その結果、どの細胞由来のエクソソームも肝臓や肺へ取り込まれやすく細胞間での有意な差は認められなかった。しかしながら、正常卵巣上皮細胞と卵巣癌細胞由来のエクソソームのプロテオミクスを比較したところ含有タンパク質の構成が異なることが分かった。さらに組織型を区別する含有タンパク質があるか解析したところ、明細胞癌と比較して漿液性癌由来エクソソームで有意に多く含まれるタンパク質が存在した。この結果から、臓器へ取り込まれた後の微小環境への影響は卵巣癌細胞と正常上皮細胞由来エクソソームあるいは組織型別のエクソソームでは異なることが示唆された。

Defining age-dependent EVP cargo and its function in inter-organ communication

* Akane Ichiki (Tokyo Institute of Technology | University of Tokyo), Ayuko Hoshino (University of Tokyo)

キーワード: Extracellular vesicles, Biodistribution, Aging, Alzheimer's Disease, Machine Learning

Aging is the greatest cause of disease and death worldwide, and investigating the corresponding processes will not only enhance the quality of life, but also, the society. Although earlier studies have described abnormal cellular processes associated with senescence, such as disruption of proteostasis and mitochondrial function, there remains a strong need for a quantitative, systemic, and accurate method to measure aging as well as understand how individual organs are systemically affected.

In this study, we focused on **extracellular vesicles and particles (EVPs)**, which are secreted from all cells and mediate cellular communication through their genetic cargo such as proteins, RNA, DNA, etc. Our laboratory has previously demonstrated that the proteomic profile of EVPs derived from plasma segregate different cancer types in humans with high accuracy, independent of stage, suggesting that plasma-derived EVPs reflect the internal state of our bodies.

We investigated whether aging would affect EVP size, quantity, and proteins and whether they could serve as a biomarker of healthy aging. We further utilized advanced **artificial intelligence (AI) algorithms** to understand which organs plasma-derived EVPs are coming from and how they could differ with age trajectory. Additionally, we examined plasma EVPs in Alzheimer's Disease (AD) patients in contrast to age-matched controls to determine the changes under age-related pathology.

Our results indicated that the number of EVPs in plasma increases with age, yet no differences were observed in the size or concentration of total protein cargo in EVPs. However, EVP protein concentrations were significantly different in non-AD and AD patients. These evidence illustrate that age and neurodegenerative disease are crucial factors that need to be considered when utilizing EVPs.

Hence, EVPs have the potential to diagnose and provide etiology for many diseases as well as how they systemically affect other organs and predict with high accuracy. This study will provide new insights on our understanding and mechanism of healthy aging.

14:45-16:15 (2023-06-30 14:45 - 16:15 | ポスター会場)

P - D3 - P001 - 066

ヒト血漿エクソソームを用いた自閉スペクトラム症病態機構の解明と診断マーカーの同定

* 杉浦圭 (東京大学大学院工学系研究科先端学際工学専攻 | 東京大学先端科学技術研究センター), 川口万太郎 (東京大学先端科学技術研究センター | 東京工業大学生命理工学院), 牧之段学 (奈良県立医科大学精神医学講座), 星野歩子 (東京大学大学院工学系研究科先端学際工学専攻 | 東京大学先端科学技術研究センター)

キーワード: 自閉スペクトラム症, エクソソーム, 細胞外小胞, バイオマーカー, 機械学習

自閉スペクトラム症 (ASD, Autism Spectrum Disorder) はコミュニケーション障害や社交性の低下、常同行動を特徴とする神経発達障害であり、日本国内での罹患率は1%を超えられている。リスク因子は遺伝子変異や環境要因などがあるが、詳細な病態メカニズムは未解明である。またASDは早期発見と早期からの療育により社会への順応性が上昇すると言われているが、現状では乳児期の診断や定量的な診断を行うことが難しい。ASDの病態機構を解明し新規診断方法を樹立することにより、将来的にはASDの治療法の開発に繋がりたいと考えている。

エクソソームは脂質二重膜を持つ直径100 nm程度の小胞であり、体内の全ての細胞から放出され、血流など体内循環に乗って全身を巡る。近年、その内包物であるタンパク質や核酸の組成によって特定の遠隔臓器への情報伝達を行うことが明らかになった。今回私は、ASD患者血漿由来エクソソームも脳に取り込まれ、特定の脳細胞に取り込まれていることを発見した。このことから私はエクソソームがASD等の神経発達障害にも影響を与えうると仮説を立て、ヒト血漿由来エクソソームがASD病態に与える影響を解析するとともに、エクソソームによるASD診断マーカーの探索を行った。

野生型マウスに対してヒトASD患者血漿由来エクソソームの投与を行い、体内における分布を観察したところ、特定の臓器・細胞に取り込まれ、その分布は定型発達者血漿由来エクソソームとは異なっていた。これより、これらのエクソソームが体内に与える影響に違いがある可能性が示唆された。またASD患者と定型発達者血漿由来エクソソームの差異をプロテオミクスによって解析したところ、機械学習により約89%の精度でASDの有無を判別でき、エクソソーム含有タンパク質をASD診断に用いることができる可能性を見出した。

14:45-16:15 (2023-06-30 14:45 - 16:15 | ポスター会場)

P - D3 - P001 - 067

Discovery of novel unnatural cyclic peptides by SELEX

* Wang Tong (山梨大学), Ando Takehiro (山梨大学), Yokoyama Takumi (山梨大学), Takamori Yukio (山梨大学), Fuji Daisuke (山梨大学), Vedi Santhana (山梨大学), Munshi Arifur (山梨大学), Yamamoto Mizuki (山梨大学), Kawakami Takashi (JST さきがけ)

キーワード: PURE system, mRNA display, SELEX, genetic code expansion

Interleukin-5 (IL-5) is a type 2 cytokine involved in various allergic diseases, including severe eosino-philic asthma. We performed directed evolution against human IL-5 using systematic evolution of ligands by exponential enrichment (SELEX) from multiple mRNA-displayed peptide libraries. Peptide libraries were prepared with Escherichia coli-based reconstituted cell-free transcription and translation coupling system (PURE system) and spontaneously cyclized using multiple intramolecularly thiol-reactive benzoic acid-derived linkers, which were ribosomally incorporated through genetic code expansion. We successfully identified multiple novel IL-5-binding unnatural cyclic peptides with different cyclization linkers from multiple highly diverse mRNA-displayed libraries.

14:45-16:15 (2023-06-30 14:45 - 16:15 | ポスター会場)

P - D3 - P001 - 068

Discovery of IL-17/IL-17RA interaction inhibitors by SELEX

* Munshi Arifur (山梨大学), Ando Takehiro (山梨大学), Yokoyama Takumi (山梨大学), Takamori Yukio (山梨大学), Fuji Daisuke (山梨大学), Vedi Santhana (山梨大学), Wang Tong (山梨大学), Yamamoto Mizuki (山梨大学), Kawakami Takashi (JST さきがけ)

キーワード: SELEX

The interaction between a pro-inflammatory cytokine, interleukin-17 (IL-17), and its receptor, IL-17 receptor (IL-17R), is associated with the development of inflammatory autoimmune diseases, including psoriasis, rheumatoid arthritis, and inflammatory bowel disease. We performed in vitro selection, also known as systematic evolution of ligands by exponential enrichment (SELEX), against the extracellular domain of human IL-17RA, the representative member of the IL-17R family, and observed enrichment of RNA sequences in the final SELEX round. Specifically, we discovered a novel 76-nucleotide (nt) IL-17RA-binding RNA aptamer.

14:45-16:15 (2023-06-30 14:45 - 16:15 | ポスター会場)

P - D3 - P001 - 069

Mortalin/HSPA9 regulates MPTP-induced Parkinson's disease via AKT and ERK signaling pathways

* Hyejin Hyung (Kyungpook national university), Zaeyoung Ryoo (Kyungpook national university)

キーワード: Mortalin/HSPA9, Parkinson's disease

Mortalin, a heat shock protein, is induced by cellular stress and plays an important role in protecting against neuronal damage caused by misfolded or aggregated proteins and cellular stress. In neurodegenerative disease such as Alzheimer's disease (AD) and Parkinson's disease (PD), down regulation of Mortalin leads to accumulation of amyloid- β and α -synuclein (α -syn) proteins. In previous studies, Mortalin expression is reduced in PD patients and animal models of PD. There have been no studies of PD using Mortalin knockdown mouse model. Therefore, I generated Mortalin knockdown mouse model and then confirmed that down regulation of Mortalin in mouse resulted in PD-like symptoms such as decreased the number of dopaminergic (DA) neurons and motor function. In addition, Mortalin knockdown mice were injected with MPTP, which is experimentally used for inducing PD, to investigate whether Mortalin knockdown aggravates PD symptoms such as movement disorder, DA neuronal death. I observed exacerbation of DA neurodegeneration, motor dysfunction and microglial activation. Microglial activation has been studied in PD patients and animal models and induces the release of inflammatory cytokines through modulation of AKT and ERK signaling pathways. AKT and ERK signaling pathways associated with PD pathological progression, were changed by MPTP in Mortalin knockdown mouse.

14:45-16:15 (2023-06-30 14:45 - 16:15 | ポスター会場)

P - D3 - P001 - 070

A bright FLIM sensor for quantifying intracellular ATP

* Chongxia Zhong (Kanazawa University)

キーワード: biosensor, FLIM, ATP

Adenosine triphosphate (ATP) provides energy to drive many essential biological processes in living organisms. ATP biosensors are valuable tools for evaluating the spatiotemporal dynamics of ATP in a single cell. Currently available ATP sensors are fluorescence intensity-based sensors, which are sensitive to experimental factors such as probe concentration, excitation intensity, etc., thereby inappropriate for quantitative analysis. Here we developed a bright genetically encoded fluorescence lifetime sensor for quantifying intracellular ATP by inserting the ATP sensing domain into a cyan fluorescent protein. Its fluorescence lifetime changed upon binding to ATP, which enabled the quantification of intracellular ATP by fluorescence lifetime microscopy.

14:45-16:15 (2023-06-30 14:45 - 16:15 | ポスター会場)

P - D3 - P001 - 071

シヨウジョウバエ消化管に存在する老化責任細胞制御機構の解析

* 平井 友梨 (京都大学薬学研究科生理活性制御学分野), 芥 真弓 (京都大学薬学研究科生理活性制御学分野), 山田 幸輝 (京都大学薬学研究科生理活性制御学分野), 谷口 喜一郎 (京都大学薬学研究科生理活性制御学分野), 井垣 達吏 (京都大学薬学研究科生理活性制御学分野)

キーワード: 老化, シヨウジョウバエ

個体老化とは、加齢に伴う生理機能の減退である。この機能減退は、組織や器官ごとに独立して生じるわけではなく、遺伝子レベルで全身性に制御されていることが分かってきた。この事実、個体の加齢を感知し、全身性の老化を惹起するような責任細胞が生体内に存在する可能性を示唆している。我々は、生体内に老化責任細胞が存在するという仮説のもと、シヨウジョウバエを用いて加齢に伴い生じる老化関連細胞を探索した。その結果、シヨウジョウバエにおいて細胞老化の誘導に必要な十分な遺伝子 Pointed の老化関連発現制御シスエレメント (AGE^{Pnt}) を同定し、そのレポーターを用いて AGE^{Pnt} 陽性細胞がシヨウジョウバエ加齢時の中腸後部領域の一部に出現することを見いだした。さらに、AGE^{Pnt} 細胞を遺伝的に除去すると個体寿命が延伸することがわかり、AGE^{Pnt} 細胞は老化責任細胞であることが示唆された。そこで今回、AGE^{Pnt} 細胞がどのように生じるかを明らかにするため、典型的な加齢変容の一つである消化管バリア機能の低下に伴う慢性腸炎を模倣するデキストラン硫酸ナトリウム (DSS) 誘導性腸炎モデルを用いた検証を行った。その結果、AGE^{Pnt} 細胞は炎症にตอบสนองして中腸後部領域に出現してくるを見いだした。また、DSS 誘導性腸炎時に AGE^{Pnt} 細胞を遺伝学的に取り除くと寿命が延伸したことから、AGE^{Pnt} 細胞は腸炎にตอบสนองして出現し、寿命を負に制御する細胞であると考えられた。さらに、炎症性サイトカインの発現を抑制すると DSS 誘導性腸炎時における AGE^{Pnt} 細胞の出現が抑えられた。以上のことから、老化責任細胞がシヨウジョウバエ消化管に存在し、消化管の炎症状態を感知して全身性の個体老化を惹起している可能性が示唆された。

比較生物学的アプローチから示される加齢にともなう遺伝子発現変化とその生体における有益性

* 吉田 優矢 (大阪公立大学大学院医学研究科病態生理), 高杉 征樹 (大阪公立大学大学院医学研究科病態生理), 野中 允幾 (大阪公立大学大学院医学研究科病態生理), 大谷 直子 (大阪公立大学大学院医学研究科病態生理)

キーワード: 老化, 比較生物学, トランスクリプトーム, パイオインフォマティクス

分子レベルでの加齢変化を包括的に評価する方法として、これまで遺伝子発現の加齢変化や種間比較解析による長寿関連遺伝子の解析が多く行われてきた。しかしながら、加齢性変化に伴って発現が変化する遺伝子群、つまり加齢と相関する遺伝子発現のパターンと、種によって大きく異なる最大寿命に関係する遺伝子群、つまり寿命の延長、すなわち長寿に相関する遺伝子発現のパターンの間にどのような関係があるのかについてはこれまでほとんど調べられてこなかった。そこで本研究ではまず 29 種類の哺乳動物を比較し、種の最大寿命と発現レベルが相関する遺伝子を独自に同定した。意外な事に、長寿の哺乳動物ほど発現が高い遺伝子はヒトやマウスの老化に際して発現が上昇する傾向にあり、逆に長寿の哺乳動物ほど発現が低い遺伝子はヒトやマウスの老化に際して発現が低下する傾向にある事が明らかとなった。長寿の動物ほど発現が高い遺伝子は長寿に寄与する可能性が高く、長寿の動物ほど発現が低い遺伝子はその逆である可能性が高いことから、この事は加齢に伴う遺伝子発現変化の多くが、個体老化を駆動するというよりもむしろ長寿に寄与する保護的な反応である可能性を示唆している。実際に、マウスの異なる系統を比較すると、同じ月齢でもより老化様の遺伝子発現パターンが強く表れている系統ほど寿命が長くなっている事が確認された。これらの結果は、加齢に伴う遺伝子発現変化の多くが、個体老化を駆動するというよりもむしろ長寿に寄与する可能性を示唆する。

レム睡眠中の脳活動がマウスのストレス抵抗性へ与える影響の検討

* 安垣進之助 (筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構 (WPI-IIS)), 柏木光昭 (筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構 (WPI-IIS)) | 東京大学理学系研究科生物科学専攻, 鹿糠実香 (筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構 (WPI-IIS)), 小柳伊代 (筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構 (WPI-IIS)), 坂口昌徳 (筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構 (WPI-IIS)), 柳沢正史 (筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構 (WPI-IIS)), 林悠 (筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構 (WPI-IIS)) | 東京大学理学系研究科生物科学専攻

キーワード: 睡眠, ストレス, 脳, 神経, ニューロン

私たちの睡眠は、レム (rapid eye movement, REM) 睡眠とノンレム (non-REM) 睡眠という 2 つの状態からなる。このうちレム睡眠は、鮮明な夢を生じる睡眠段階として知られる。しかし、その生理的作用についてはわかっていないことが多い。そこで我々は、レム睡眠の生理的作用を解明するための端緒として、うつ病に着目した。うつ病患者は、ほとんどの場合、不眠など何らかの睡眠障害に苦しむが、驚くことに、レム睡眠量に関してはむしろ増加するケースが多い。現在まで、このレム睡眠量の増加が、うつ病から回復するための代償起点なのか、むしろ病態を増悪させる要因なのかについては、議論が分かれるところである。この議論に挑むための第一歩として、我々は、社会的敗北ストレスを用いてマウスにうつ様の病態を誘導し、そこで生じる睡眠変容を記録・解析した。うつ病患者と同様に、ストレス曝露は、レム睡眠量の増加を含む、レム睡眠に関連するパラメータを劇的に変えた。さらに、ストレス曝露が慢性的に繰り返されると、レム睡眠量の増加のしかたが鈍化した。これらの結果をもとに、次に、我々がマウスの脳において同定したレム睡眠促進ニューロンを標的とし、特定のタイミングでそれらを化学遺伝学的に興奮させることでレム睡眠量を人為的に増加させることで、生じる影響を調べた。その結果、我々は、レム睡眠促進ニューロンの反復的な興奮が、社会的敗北ストレスにより生じる行動表現型に変化をもたらすことを見出した。現在、我々は、光遺伝学的手法を用いてレム睡眠特異的に介入することにより、このレム睡眠促進ニューロンの反復的な興奮がどのようにして行動表現型の変化に寄与するかについて迫ろうとしている。本研究の成果は、レム睡眠とストレス抵抗性との因果関係を解き明かす上で重要な礎となることが期待される。

カウフマン症候群原因遺伝子 *Ube3b* が若年成人期シナプス数維持に及ぼす影響

* 小金澤 紀子 (群馬大学 大学院医学系研究科 薬理学), 勝部 早紀 (群馬大学 大学院医学系研究科 薬理学 | 群馬大学 医学部), 花村 健次 (群馬大学 大学院医学系研究科 薬理学), 川辺 浩志 (群馬大学 大学院医学系研究科 薬理学)

キーワード: 超解像 STED 顕微鏡, 発達障害, シナプス

出生数が低迷している一方で、発達障害に苦しむ患者の数は増加の一途を辿っている。こうした背景から、新しい診断法と予防法そして治療法を開発するためにも個々の発達障害の病態を細胞レベルと分子レベルで理解することは社会的に重要である。私どもはこれまで発達障害の病態の中でも記憶や学習などの脳高次機能の異常に注目して研究してきた。中でも脳高次機能の制御に重要な樹状突起スパインの上に形成されるシナプスに注目してきた。発達障害の一つであるカウフマン眼球脳顔面症候群 (KOS) は、知的障害を伴う全般的な発達遅延、低コレステロール血症、けいれん発作を特徴とする常染色体劣性の遺伝疾患である。KOS の原因遺伝子として、E3 リガーゼ遺伝子である *Ube3b* が報告されている。マウス脳で *Ube3b* を欠損させると生後 3 週間後樹状突起スパインの数がコントロールマウスよりも増加していたことから、発達初期では *Ube3b* がシナプス形成の負の制御因子であることを私どもは報告した。本研究では、脳特異的コンディショナル *Ube3b* ノックアウト (*Ube3b* cKO) マウスを用いて、ヒトの若年成人期に相当する 9-10 週齢のマウスから脳切片を作成し、シナプス前部とシナプス後部のマーカーである Bassoon と Homer1 に対する抗体で免疫染色を行った。海馬を 3D-STED (3D Stimulated Emission Depletion) 顕微鏡で観察してシナプス数を定量した。その結果、*Ube3b* cKO では、シナプスの密度がコントロールと比較して有意に減少していることがわかった。この結果から、*Ube3b* が若年成人期のシナプス数の維持に重要であると結論した。

膠芽腫細胞浸潤におけるインポータイン $\alpha 1$ と細胞接着因子の関係

* 山内 貴寛 (福井大学医学部 脳神経外科), 野宮 廣貴 (福井大学医学部 分子生体情報学), 菊田 健一郎 (福井大学医学部 脳神経外科), 山田 雅巳 (福井大学医学部 分子生体情報学)

キーワード: importin $\alpha 1$, migration, glioblastoma, CADM1, integrin $\beta 1$

【目的】核-細胞質間物質輸送因子であるインポータイン α の中で、インポータイン $\alpha 1$ の発現亢進と高い悪性度や浸潤能との関係が報告されている。一方インポータイン $\alpha 1$ の浸潤能亢進について、細胞内ダイナミクスをはじめとした分子メカニズムの解明はなされていない。今回我々は細胞の浸潤能亢進について、インポータイン $\alpha 1$ と細胞接着因子の関係に着目し研究を行った。

【方法】膠芽腫 U87 株及び U251 株を用いた。CRISPER/Cas9 法を用いてインポータイン $\alpha 1$ をノックアウトし、Wound Healing Assay (WHA) による遊走能の評価、インテグリン $\beta 1$ および CADM1 の免疫染色、ライブセルイメージングによる細胞内物質輸送の観察を行った。

【結果】インポータイン $\alpha 1$ のノックアウト、インテグリン $\beta 1$ 及び CADM1 の発現は免疫染色および Western Blotting 法にて確認され、インポータイン $\alpha 1$ ノックアウト細胞において CADM1 の発現増加とインテグリン $\beta 1$ の細胞内分布の変化がみられた。WHA では U251 株のインポータイン $\alpha 1$ ノックアウト細胞は有意な遊走能の低下を示し、ライブセルイメージングではインテグリン $\beta 1$ の細胞質内輸送に制限がみられた。

【考察】遊走能に関連した因子として、CADM1 の発現増加とインテグリンの輸送制限が観察された。CADM1 の発現増加は、細胞間の接着を亢進させることで遊走能を低下させたと考えられるが、インテグリン $\beta 1$ については核-細胞質間物質輸送の制限により他の輸送因子が欠損した結果として細胞内輸送が制限されたのか、インポータイン $\alpha 1$ 欠損による直接的な細胞内輸送の制限であるのかを確認する必要がある。またインポータイン $\alpha 1$ は多くの物質輸送に関わる因子であるため、今回確認された以外の因子が遊走制限に関わっていないかを調べる必要がある。

14:45-16:15 (2023-06-30 14:45 - 16:15 | ポスター会場)

P - D3 - P001 - 076

パルミトイル化阻害によるオートファジーへの影響の解析

* 西 美生子 (兵庫県立神戸高等学校), 佐伯 麻里花 (大阪大学大学院 生命機能研究科 時空生物学講座 細胞内膜動態研究室), 田端 桂介 (大阪大学大学院 生命機能研究科 時空生物学講座 細胞内膜動態研究室), 吉森 保 (大阪大学大学院 生命機能研究科 時空生物学講座 細胞内膜動態研究室 | 大阪大学大学院 医学系研究科 遺伝学教室 | 大阪大学先導的学際研究機構 生命医科学融合フロンティア研究部門)

キーワード: オートファジー

パルミトイル化は、パルミチン酸を基質タンパク質のシステイン残基に共有結合させる翻訳後脂質修飾であり、タンパク質の細胞内局在や構造、機能等の制御に重要な役割を果たす。細胞内分解機構であるオートファジーも、パルミトイル化の影響を受けることが報告されている。オートファジーが誘導されると、細胞質中に隔離膜と呼ばれる扁平な膜構造が現れ、湾曲しながら細胞質を囲むように伸長し、最終的には末端同士が融合することで、細胞内成分が球状の二重膜構造体 (オートファゴソーム) 内に隔離される。これらの一連の機構は、ATG タンパク質群により制御されている。オートファジーは飢餓時に強く亢進し、自己の一部を分解することで栄養源を確保する (飢餓誘導性オートファジー)。また配属研究室では、損傷を受けたリソソームを選択的に除去し、細胞内の恒常性維持に寄与するオートファジー (リソファジー) を発見した。本研究ではこの二種類のオートファジーに着目し、パルミトイル化阻害剤 2-BP による ATG タンパク質集積への影響を調べた。

オートファジー開始時に ULK1 複合体が、隔離膜形成時に ATG5 が、オートファゴソーム形成時に LC3 がそれぞれ機能する。蛍光標識した ULK1、LC3、ATG5 を発現する細胞で飢餓またはリソソーム損傷を誘導すると、これら ATG タンパク質群が集積しドット状に観察された。一方、同時にパルミトイル化阻害剤を添加した細胞では、ATG タンパク質群の集積が減弱した。パルミトイル化を阻害するとオートファジー開始部位への ULK1 の集積が抑制され、それ以降のオートファジーの段階に関わる LC3 および ATG5 の集積も減弱したと推察される。以上より、飢餓誘導性オートファジーとリソファジーの両方において、オートファジー開始時の ULK1 複合体の形成や動員にパルミトイル化が重要である可能性がある。

14:45-16:15 (2023-06-30 14:45 - 16:15 | ポスター会場)

P - D3 - P001 - 077

がん細胞におけるオートファジー抑制タンパク質 Rubicon の動態解明

* 白井莉菜 (関西大学第一高等学校), 小倉もな美 (大阪大学大学院 生命機能研究科), 井本ひとみ (大阪大学大学院 生命機能研究科), 吉森保 (大阪大学大学院 生命機能研究科)

キーワード: オートファジー, Rubicon, がん細胞

Rubicon は、真核細胞に普遍的な細胞内大規模分解系オートファジーを抑制するタンパク質である。Rubicon は脂肪細胞を除くほぼ全ての細胞で加齢に伴い増加する事が分かっており、それが加齢に伴うオートファジー活性低下の要因となっている。また近年、オートファジーは様々な疾患に関与している事が報告されている。その1つであるがんでは、オートファジーは正常細胞のがん化抑制に働く一方でがん細胞の生存及び増殖は促進する。しかしながら、がんと Rubicon の関係性については未だ明らかになっていない事が多い。その為、本研究ではマウス肝臓由来の細胞株をがん化したものとしていないものについて、Rubicon 発現量及びオートファジー活性を比較し、細胞のがん化による Rubicon 発現量の変化を調べた。その結果、正常細胞と比較し、このがん細胞では Rubicon 発現量が増加傾向にあり、オートファジー活性が低下傾向にある事が分かった。さらに、増加傾向にあった Rubicon を発現抑制し、がん細胞の増殖率を調べたところ、増殖率が低下する事が分かった。また、がん細胞でも加齢に伴う Rubicon 発現量の変化がみられるのかを細胞老化誘導実験を行い検証した。しかし、本がん細胞で細胞老化が誘導されなかった。興味深いことに本がん細胞では老化マーカーである p21 が、老化誘導をしなくても増加傾向にあった。今後は、Rubicon の下流因子とがん化の関係性を調べると共に、不老であり発癌率がほぼ 0% であるハダカデバネズミについて Rubicon の量や機能を明らかにしたいと考えている。

14:45-16:15 (2023-06-30 14:45 - 16:15 | ポスター会場)

P - D3 - P001 - 078

Mechanism of Coumarin's Germination Inhibition

* 福田和真 (佐賀県立致遠館高等学校)

キーワード: Coumarin, Germination Inhibition, Secondary Dormancy

Coumarin indicates various effects in botanical cells. Especially, during germinating term, it works as a strong germination inhibitor. Previous studies suppose that it regulate the levels of various plant hormones by inhibiting genes related them. In addition, coumarin affect various vital pathway such as TCA cycle. However, it is uncertain how coumarin affect seed's germination process in a botanical cell.

Based on previous studies, we assumed that coumarin induce secondary dormancy by working at seed coat and affect material influx.

Following this hypothesis, we conducted some experiments to observe outside of cells, after then, tried to suppose how coumarin works inside cells.

As a result, it is suggested that coumarin is an inducer of secondary dormancy.

Quantitative analysis of Akt isoform-specific temporal activation dynamics with optogenetics and mathematical model

* Yuka Sekine (The University of Tokyo), Genki Kawamura (The University of Tokyo), Takeaki Ozawa (The University of Tokyo)

キーワード: Optogenetics, Mathematical model, Isoform, Temporal dynamics, Akt

Ser/Thr kinase Akt, which plays central roles in cellular signal transduction, exist as three isoforms-Akt1/2/3. Although the Akt isoforms possess high amino acid sequence similarity and overlapping functions, they have functional differences such as substrate specificity, subcellular localization, and cell migration. It is suggested that the Akt isoforms show specific-temporal activation patterns, selectively regulate their downstream signaling, and are related to various cellular responses. However, details of the Akt isoforms' temporal dynamics and their roles in cells remain elusive. In this research, we aim to quantitatively analyze the Akt isoforms' temporal properties by developing a novel method, which employs combination of optogenetics and a mathematical model.

To control each Akt isoform's activity, we used a principle of an optogenetics tool, PA-Akt system, which was first developed for regulating Akt1 activity (Katsura, 2015. Sci. Rep.). This system enables Akt activation with light stimulation by utilizing light-induced heterodimerization of photoreceptors CRY2/CIBN. In this study, the PA-Akt principle was newly applied to Akt2/3, and it was confirmed that CRY2-Akt isoforms were activated by light illumination. To analyze the CRY2-Akt isoforms' temporal dynamics, activation level changes of CRY2-Akt1/2/3 were measured by detecting Akt phosphorylation. As a result, the dephosphorylation rate of CRY2-Akt3 was slower than that of CRY2-Akt1/2, suggesting that each Akt isoform has different temporal dynamics in cells.

To quantitatively analyze the measured CRY2-Akt isoforms' phosphorylation patterns, we employed a mathematical model. For the quantitative analysis of the differences among the Akt isoforms' dynamics, a framework of mathematical fitting was developed. The isoform-specific kinetic parameters in the model are estimated by fitting the experimental values with ordinary differentiation equations describing CRY2-Akt activation kinetics. We confirmed applicability of the model structure to compare three isoforms and improved parameter fitting process. The molecular mechanisms underlying the Akt isoform-specific temporal properties will be revealed by considering the biological relevance of the parameters to cellular functions. In the future, the Akt isoform-specific temporal dynamics and their roles on the isoforms' functions and cellular responses will be clarified.

レーザーアブレーション法を用いたアクチン細胞骨格の損傷回復機構の解析

* 長山 和亮 (茨城大学大学院理工学研究科 機械システム工学専攻)

キーワード: Mechanobiology, Cell biomechanics, Actin stress fibers, Viscoelastic

血管や骨などの生体組織は力学環境の変化に応じて構造や機能を変化させる。生体組織の力学応答を支える細胞内要素として、アクチン細胞骨格の役割が注目されてきている。近年、著者らは、アクチン細胞骨格が自己の線維構造を効率良く修復させ、さらに発生する力も再現させる能力が備わる可能性を得てきている。このような細胞骨格分子の修復・再現能力は、外乱に対する生体組織全体の恒常性を保つ基盤原理となっている可能性が高い。これらのメカニズムが明らかになれば、生体組織の損傷を効率よく回復する原理の解明や、自己回復機能を有する分子アクチュエータの提案などに繋がるかもしれない。そこで本研究では、細胞内でのアクチン細胞骨格の損傷回復機構を明らかにすることを目的とし、独自開発した顕微鏡複合型のレーザーアブレーションシステムを用いて、アクチン細胞骨格を切断し、その後の収縮および回復挙動を詳しく解析した。

すべての細胞について、切断後にファイバがゴムのように直ちに収縮することから、生理状態のストレスファイバが張力を発生していることが確認できた。切断後、ファイバの収縮速度は次第に減速し、粘弾性的な振る舞いを見せたが、そのまま収縮を完了する場合と収縮しながら線維構造を回復する場合が見られた。

今回は、特に細胞の中心付近に分布するファイバ (Central SF) と、細胞輪郭を形成するファイバ (Peripheral SF) に着目して比較したところ、両群でファイバの太さや収縮速度に有意な違いが見られなかったにも関わらず、切断後に構造を回復させる割合は、Central SF では 3 割程であったが、Peripheral SF では約 7 割となった。両群ともにアクチン細胞骨格を主体とするタンパク質線維ではあるが、それぞれの構成分子の比率や、細胞内での生理的な役割が大きく異なる可能性が見出された。

細胞競合はモルフォゲン勾配の乱れを解消することで頑強な器官発生を支える

* 松本かな子 (大阪大学 微生物病研究所 生体統御分野 | 大阪大学 理学研究科), 穂枝佑紀 (大阪大学 微生物病研究所 生体統御分野), 原岡由喜也 (大阪大学 微生物病研究所 生体統御分野), 石谷太 (大阪大学 微生物病研究所 生体統御分野)

キーワード: ロバストネス, 細胞競合, 器官発生

近年のシングルセル解析技術の発展により、正常な初期胚発生過程において不良細胞が頻繁に生じるものの、それらの多くが隣接正常細胞との細胞間コミュニケーション（細胞競合）によって排除されることで発生プログラムの正確な進行が支えられることが明らかになってきた。しかし、脊椎動物の器官発生過程における細胞競合の役割については、いまだに不明である。本発表では、生理的な細胞競合が脊髄および筋肉の頑強なパターン形成を支えることを報告する。まず、正常なゼブラフィッシュ稚魚において、脊髄や筋肉の背腹（DV）パターン形成を担う Shh モルフォゲン勾配をイメージング解析したところ、場にそぐわない Shh 活性を持つ異常細胞が頻繁に発生し、Shh モルフォゲン勾配が乱れることを見出した。また、これら異常細胞のうち 38% の細胞は、カドヘリンを介した隣接正常細胞とのコミュニケーションと、それに続く Smad-Foxo3- 活性酸素種の活性化によって細胞死が誘導され、排除された。さらに、この排除機構を強制的に抑制したゼブラフィッシュ個体では、自然発生した異常細胞の蓄積の結果として Shh モルフォゲン勾配が大きく乱れ、脊髄や筋肉の DV パターンが破綻した。このように、細胞競合を介したモルフォゲン勾配の乱れの解消が正確な器官発生を支えることが分かった。我々はさらに、細胞競合によって排除される異常細胞の共通のマーカーとして Foxo3 を同定し、初期胚発生過程および器官発生過程において異常細胞の発生と細胞競合による排除が頻繁に起こることを明らかにした。このように、本研究により、細胞競合が多様な発生過程の頑健性を保証する根本的な生命システムであることが明らかになった。

転写因子 Gli1/Gli2/Gli3 の繊毛先端への輸送の分子機構と役割

* 石田 大和 (京都大学薬学研究科生体情報制御学分野), 高橋 優利 (京都大学薬学研究科生体情報制御学分野), 加藤 洋平 (京都大学薬学研究科生体情報制御学分野), 中山 和久 (京都大学薬学研究科生体情報制御学分野)

キーワード: Primary cilia, Gli, Hedgehog signaling, Protein-protein interaction, Intraflagellar transport

一次繊毛は細胞膜から突出したオルガネラであり、外部からのシグナルを受容するアンテナとして機能する。一次繊毛で制御される代表的なシグナル伝達経路にヘッジホッグシグナリングがある。ヘッジホッグシグナルは転写因子 Gli を介して標的遺伝子の転写を調節することで生体のパターン形成を司る。Gli 転写因子には、転写活性型として機能する Gli1 と Gli2、および転写抑制型として機能する Gli3 が存在し、いずれもヘッジホッグシグナリングの活性化に伴って一次繊毛の先端に蓄積することが知られている。しかし、Gli1/2/3 が繊毛の先端まで輸送される分子機構や生理的意義はわかっていない。本研究では、繊毛内タンパク質輸送を担う IFT 装置が Gli1/2/3 の繊毛先端への輸送に関与する可能性について検証した。

まず、タンパク質間相互作用解析を行い、IFT 装置を構成する IFT-A 複合体、IFT-B 複合体、キネシン II 複合体のうちのどれが Gli1/2/3 と相互作用するのかを調べた。その結果、Gli1/2/3 はいずれも IFT-B 複合体と相互作用することが明らかになった。次に、IFT-B 複合体のサブユニットのうち、Gli1/2/3 との相互作用に寄与するサブユニットを絞り込んだところ、IFT46-IFT56 の二量体が Gli1/2/3 との相互作用に重要であることを見出した。

現在、IFT56 ノックアウト細胞における Gli1/2/3 の繊毛局在について解析中である。本大会ではこの結果についても紹介し、IFT-B 複合体との相互作用が Gli1/2/3 の繊毛先端への輸送において果たす役割について議論したい。

14:45-16:15 (2023-06-30 14:45 - 16:15 | ポスター会場)

P - D3 - P001 - 083

血流依存的な血管・上皮相互作用によるガス交換組織形成機構の解析

* 中嶋 洋行 (国立循環器病研究センター), 望月 直樹 (国立循環器病研究センター)

キーワード: イメージング, 血管形成, 細胞間接着, メカニカルストレス, ゼブラフィッシュ

極性上皮細胞と血管内皮細胞はともに、頂端膜-基底膜の極性を持ち、細胞間接着分子を介した細胞間接着によって細胞シートを形成する。組織形成時には、上皮細胞シートが神経管・腸管などの様々な組織の外形を作るが、この時、頂端膜収縮などの上皮細胞の内部で生じる力が、上皮細胞シートを変形させる駆動力となり、組織の形状が制御される。一方、血管内皮細胞の頂端膜は常に血流に曝されており、血管の吻合や退縮時には、細胞外からの応力やリガンドに依存した細胞間接着・細胞骨格の変化が血管内皮細胞のシート構造の変化を引き起こす。我々は、血管内皮細胞の細胞間接着や細胞極性を生きたまま可視化できるトランスジェニックゼブラフィッシュを樹立し、血管形成時の内皮細胞シートのダイナミクスを、生体イメージングによって詳細に観察した。その結果、ガス交換組織である鰓の血管が形成される際に、血流による力学刺激にตอบสนองして内皮細胞シートの変形が誘導されることを見出した。これまで、新生血管は元の血管との細胞間接着を弱めながら矢状仮足を伴う分枝により伸長すると考えられてきたが、ここでは内皮細胞シートが、細胞間接着や極性を維持したまま、シート自体が変形することで新生血管が形成されるという新しいタイプの血管新生が起きていることがわかった。さらに、鰓形成時の血管内皮細胞と極性上皮細胞の同時観察を行ったところ、内皮細胞シートと上皮細胞シートが空間的に近接しながら、血流に依存した内皮細胞シートの変形に伴って最外層の上皮細胞シートの変形が誘導されることを見出した。一般的な組織形成では、組織の形状やサイズが血管の領域を規定するのに対して、今回我々は血管が上皮細胞シートの形態を制御するという新しい組織形状制御を見出したので本発表で紹介したい。

14:45-16:15 (2023-06-30 14:45 - 16:15 | ポスター会場)

P - D3 - P001 - 084

F₀F₁-ATP 合成酵素によるミトコンドリアの新規制御機構

* 市川 葵 (大阪大学理学研究科生物科学専攻), 丸山 翔太 (大阪大学理学研究科生物科学専攻), 石原 孝也 (大阪大学理学研究科生物科学専攻), 石原直忠 (大阪大学理学研究科生物科学専攻)

キーワード: ミトコンドリア, 核様体, ATP 合成酵素

ミトコンドリアは酸素呼吸によってエネルギーを産生する細胞小器官であり、融合と分裂のバランスの下にその形態をダイナミックに変化させている。また、このミトコンドリアダイナミクスの変化に伴って、ミトコンドリア DNA からなる「核様体」構造が変化することも知られている。私達はこれまでにミトコンドリア分裂因子 Drp1 を欠損した HeLa 細胞 (Drp1 KO HeLa 細胞) を構築したところ、ミトコンドリアが過剰に伸長するだけでなく、核様体が局所的に集まり、ミトコンドリア機能に影響を及ぼすことを見出している。本研究では核様体の形態に着目して、その制御に関わる因子を探索し分子解析することで、新しいミトコンドリア機能制御機構の同定を目指した。

私達は独自の siRNA ライブラリーを用いたスクリーニングにより、Drp1 KO HeLa 細胞の核様体を変化させる候補遺伝子群を同定している。その候補から今回、F₀F₁-ATP 合成酵素のサブユニットをコードする遺伝子に着目した。Drp1 KO HeLa 細胞に候補因子の発現を抑制すると、ミトコンドリアは一部短くなりまた核様体は分散することがわかった。しかし、この細胞を ATP 合成酵素阻害剤で処理しても核様体の分散は観察されなかったことから、ATP 合成酵素の活性とは独立に核様体の分布制御に関わっていることがわかった。さらに、この Drp1 KO HeLa 細胞に候補因子を発現抑制した条件では、呼吸活性が部分的に回復しミトコンドリアストレスが軽減されたことから、核様体の分布がミトコンドリア機能制御に重要な役割を持つことが示唆された。これらの結果から、F₀F₁-ATP 合成酵素によってミトコンドリア内部構造が制御され、その結果ミトコンドリア機能変動するのではないかと考えている。今後さらに候補因子によるミトコンドリア内部構造の制御機構の解析を進めていく。

14:45-16:15 (2023-06-30 14:45 - 16:15 | ポスター会場)

P - D3 - P001 - 085

異常な pH 環境は細胞競合を介した細胞品質管理機構を破綻させる

* 穂枝 佑紀 (大阪大学微生物病研究所生体統御分野), 石谷 太 (大阪大学微生物病研究所生体統御分野)

キーワード: 細胞競合, ゼブラフィッシュ, 胚発生

1つの受精卵から細胞分裂を繰り返して私たちの体は作り上げられる。この胚発生の過程では、ゲノム変異などにより突発的に不良細胞が生じてしまう。私たちは、ゼブラフィッシュをモデルとしたイメージング解析により、胚に生じた不良細胞が細胞競合を介して除去されることを発見した。不良細胞は隣接する正常細胞群に感知されて、細胞死を介して除去される。興味深いことに、近年の NGS 解析により胚に生じたゲノム異常細胞 (不良細胞) を起源とする細胞群が成体におけるアルツハイマー病や糖尿病などの疾患の発症に関与することが明らかになりつつある。こうした胚発生期に生じた不良細胞は何らかの要因により細胞競合が破綻し除去を回避した可能性が推察される。しかしながら、そのような細胞競合による除去機構が破綻する要因はほとんど分かっていない。そこで、私たちは、細胞競合が破綻する環境攪乱に注目し解析を試みた。その結果、酸性 pH 環境が細胞競合を破綻させることを発見した。また、アルカリ性 pH 環境でも同様に破綻した。pH 環境の攪乱による細胞競合の破綻は、異常細胞の感知に必要な接着分子カドヘリンの減少が原因であった。このように環境攪乱による細胞競合の新たな破綻機構が明らかになった。興味深いことに細胞外 pH 環境は、がん微小環境、低酸素や炎症といった様々な現象にともない pH 環境が酸性に変化することが報告されており、様々な場面での細胞競合も破綻させる可能性が示唆される。

協賛企業・団体一覧

◆助成

公益財団法人 細胞科学研究財団，公益財団法人 テルモ生命科学振興財団，
公益財団法人 持田記念医学薬学振興財団，一般財団法人 奈良県ビジターズビューロー

◆寄付

UHA 味覚糖株式会社，三和理研株式会社，和研薬株式会社，ナカライテスク株式会社

◆企業共催シンポジウム

アイリックス株式会社，横河電機株式会社，ベクタービルダー

◆共催シンポジウム

JST CREST「計測技術と高度情報処理の融合によるインテリジェント計測・解析手法の開発と応用」

JST CREST「細胞外微粒子に起因する生命現象の解明とその制御に向けた基盤技術の創出」

JST CREST「細胞内現象の時空間ダイナミクス」

AMED-CREST「プロテオスタシスの理解と革新的医療の創出」

新学術領域研究「マルチモードオートファジー：多彩な経路と選択性が織り成す自己分解系の理解」

新学術領域研究「情報物理学でひもとく生命の秩序と設計原理」

学術変革領域研究 (A)「競合的コミュニケーションから迫る多細胞生命システムの自律性」

学術変革領域研究 (A)「力が制御する生体秩序の創発」

学術変革領域研究 (B)「ポストリソソーム生物学：分解の場から始まる高次生命現象の理解」

国際先導研究「植物生殖の鍵分子ネットワーク」

◆男女共同参画

学術変革領域研究 (A)「マテリアルシンバイオシスのための生命物理化学」

◆ランチョンセミナー

株式会社ニコンソリューションズ，カールツァイス株式会社，サーモフィッシャーサイエンティフィック，
株式会社エビデント，ライカマイクロシステムズ株式会社

◆ネームカード・ストラップ

株式会社エビデント

◆大会ウェブサイトバナー

富士フィルム和光純薬株式会社，東京化成工業株式会社，テカンジャパン株式会社，株式会社トミー精工，
オックスフォード・インストゥルメンツ / アンドール・テクノロジー，
一般社団法人 日本オートファジーコンソーシアム，大阪大学薬学研究科 創薬サイエンス研究支援拠点，
ソーラボジャパン株式会社

◆電子プログラム抄録集

ベクタービルダー，大阪薬研株式会社，サーモフィッシャーサイエンティフィック，タイテック株式会社

◆企業展示

アンドール・テクノロジー / オックスフォード・インストゥルメンツ, CEM Japan,
株式会社日本シノバイオロジカル, 株式会社新興精機, 株式会社ニコンソリューションズ,
株式会社池田理化, 浜松ホトニクス株式会社, アイリックス株式会社, カールツァイス株式会社,
株式会社 GC リンフォテック, トミーデジタルバイオロジーク株式会社, 日本電子株式会社,
ヤマト科学株式会社, 株式会社日本サーマル・コンサルティング, 株式会社エビデント, 横河電機株式会社,
ソニー株式会社, Life Analytics 株式会社, ライカマイクロシステムズ株式会社, ショーシン EM 株式会社,
中山商事株式会社, 健都イメージングサポート拠点, 先端バイオイメージング支援プラットフォーム (ABiS),
国立研究開発法人 理化学研究所 バイオリソース研究センター,
国立研究開発法人 宇宙航空研究開発機構 (JAXA)

◆書籍展示

ユサコ株式会社, 株式会社羊土社