

生命と化学

2021 年度採択研究者

2021 年度 年次報告書

角山 貴昭

沖縄科学技術大学院大学 膜協同性ユニット
博士研究員

定量的超解像法 superPAINT の開発と細胞膜シグナル統合基盤の解明

§ 1. 研究成果の概要

本申請研究では新規顕微鏡法である superPAINT の開発と、それを応用した細胞膜上に存在するシグナル統合基盤の解明という2つの大目標の達成を目指している。

1. superPAINT の開発について

可視化用のプローブとして enhanced monomeric avidin (eMA) と biotin のペアを用い、これらの結合能を意図的に下げることで、まばらな標識を可能とすることが本手法の原理である。まず、eMA を完全な単量体とするために変異を導入し、これに成功した。次に、biotin との結合能を下げるため、結合に関与しているアミノ酸を系統的に変異させ、結合量(on-rate)と結合時間(off-rate)を個別に調整できる可能性を見出した。来年度以降はさらなる変異の組み合わせ、biotin 誘導体、蛍光色素とも組み合わせについてもスクリーニングしていく予定である。

2. シグナル統合基盤の解明について

「細胞膜内側に、様々な受容体の信号を統合する基盤が存在する」が作業仮説である。まず統合基盤を構成していると予想されたタンパク質である talin と zyxin の KO 細胞を入手し、そこに内在性と同レベルのタグ付き talin と zyxin を発現させて1分子蛍光観察を行った。驚くべきことに、talin と zyxin の共会合体を細胞膜の至るところで検出でき、それらは平均 4~7 分子程度の talin, zyxin を含み、会合体の寿命は 10 秒以下と、非常にダイナミックな構造であった。さらにこの会合体に CD59, PDGFR という全く異なるタイプの受容体が刺激依存的にリクルートされることを見出し、talin-zyxin 会合体がシグナル統合基盤として働いているという確証を得た。来年度以降は会合体の形成メカニズムについて進めていく予定である。