

生命と化学

2021 年度採択研究代表者

2022 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

## 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

本年度では前年度までに同定した、Biotin との結合速度に関与する enhanced monomeric avidin (eMA)の変異を様々に組み合わせ、数十 m 秒から数 m 秒程度の結合時間を持つ新規プローブの開発に成功した。これにより、様々な時間スケールでの superPAINT 観察が可能となった。さらに、全体の安定性や親水性に関わる変異を追加で導入し、元の eMA よりもはるかに細胞内で安定に発現させる事にも成功した。次年度以降は実際のターゲットを開発手法で観察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。前年度までに、talin、zyxin というタンパク質が細胞膜上で~80nm 程度の会合体を形成し、CD59、PDGFR という受容体が刺激依存的にリクルートされてくるところを明らかにした。本年度ではさらに、この会合体に integrin、RIAM、VASP が含まれていることを明らかにし、構成分子の頭文字から iTRVZ と名付けた。この会合体のサイズは~80nm 程度であり、細胞膜上に均一かつ大量に存在(0.25 個/ $\mu\text{m}^2$ )し、検証したすべての細胞で存在を確認できた。

また、信号に関する機能解析として、CD59 と PDGFR に加え、Thy1、EGFR、P2Y 受容体が iTRVZ 経路で信号を伝達していることを見出した。この結果は、iTRVZ がシグナル統合基盤としての役割をもっていることを強く示唆する。

iTRVZ は 10 秒程度で生成と消滅を繰り返す非常にダイナミックな構造である。なぜこのような動的な挙動を示すのかを検証するため、Liquid-liquid phase separation(LLPS)による液体的な相互作用の関与を試験し、その可能性を見出した。次年度以降はさらに変異タンパク質などを用いた詳細な解析を行う予定である。

前述のように、PDGFR、EGFR のような RTK の関与が示唆されたため、mouse xenograft model を用いた iTRVZ と癌細胞の増殖に関する予備的な実験を行った。その結果、iTRVZ の活性によって腫瘍の成長が促進されるという結果が得られつつある。来年度ではさらに検証を進める予定である。