生細胞内メンブレンコンタクトの化学的制御法の開発

（名工大院工[1]・新潟大院医歯[2]）◯吉川 優[1]・澤田 隼佑[1]・中津 史[2]・築地 真也[1]

Development of a chemical method for regulating membrane contact in living cells

([1]*Graduate School of Engineering, Nagoya Institute of Technology*, [2]*Graduate School of Medical and Dental Science, Niigata University*) ◯Masaru Yoshikawa,[1] Shunsuke Sawada,[1] Fubito Nakatsu,[2] Shinya Tsukiji[1]

Close contacts between organelles, often called “membrane contact site (MCSs)”, are gaining considerable interest in cell biology. To investigate physiological roles of MCSs, experimental methods that allow control over the formation and dissociation of MCSs between intended organelles in a temporal manner is highly needed. Here we report new chemogenetic systems that can be used to reversibly induce membrane contacts in living cells. In this method, an ER-tethered tag protein is recruited to the intended organelle by using a membrane-targeted ligand, so-called self-localizing ligand (SL). The SL-induced membrane contact can be reversed by the addition of a free (unmodified) ligand. Using this approach, chemical induction of ER-PM and ER-Golgi contacts has been demonstrated in living cells.

Keywords: *membrane contact; self-localizing ligand; plasma membrane; endoplasmic reticulum; Golgi apparatus*

近年、細胞内のさまざまなオルガネラ膜や細胞膜が近接し、メンブレンコンタクト（以下、コンタクト）と呼ばれる膜—膜接触部位を形成することが明らかとなってきた。コンタクトは、脂質の交換輸送や代謝、シグナル伝達等に関与していると考えられているが、その生理機能についてはまだ不明な点が多い。コンタクトの機能を解明する上で、生細胞内の任意のオルガネラ膜間のコンタクトを人為的に誘導する手法は極めて強力なツールになるものと期待される。そのような手法として、ラパマイシンによる FKBP と FRB の化学誘導二量化（CID）を利用したアプローチが報告されているが、ラパマイシン CID 法は可逆性がなく、コンタクトを解消させた後の細胞動態の追跡や、コンタクト形成の繰り返し制御には不向きである。そのため、コンタクト形成を可逆的に操作することのできる新ツールの開発が待たれている。

今回我々は、細胞内の特定のオルガネラ膜に結合する小分子リガンド（「局在性リガンド」）と人工タンパク質を用いた、ケモジェネティックな細胞内コンタクト操作システムを開発した。本システムは、局在性リガンドの添加でコンタクト形成を誘導でき、さらに別の化合物の添加によってそのコンタクトを可逆的に解消することができる。これまでに、小胞体と細胞膜（ER-PM）および小胞体とゴルジ体（ER-Golgi）でのコンタクト制御と、それに伴う細胞生理機能の誘導に成功している。本発表では、生細胞内コンタクトを操作する新規化学ツールについてその詳細を報告する。

© The Chemical Society of Japan