

生細胞内メンブレンコンタクトを操作する化学ツールの開発

(名工大院工¹・名工大工²・新潟大院医歯³) ○吉川 優¹・阿喰 萌香²・筒井 啓太¹・中津 史³・築地 真也^{1,2}

Development of chemical tools for manipulating membrane contacts in living cells (¹*Graduate School of Engineering, Nagoya Institute of Technology*, ²*Faculty of Engineering, Nagoya Institute of Technology*, ³*Graduate School of Medical and Dental Science, Niigata University*)
○Masaru Yoshikawa,¹ Moeka Ajiki,² Keita Tsutsui,¹ Fubito Nakatsu,³ Shinya Tsukiji^{1,2}

Membrane contact sites (MCSs) are formed by the proximity of two organelle membranes and associated with various cellular functions such as lipid metabolism and signal transduction. To investigate physiological roles and formation mechanism of MCSs, experimental methods that enable conditional and reversible control of MCS formation between intended organelles are highly needed. Here we report a chemogenetic system for inducing MCS formation between the endoplasmic reticulum (ER) and the plasma membrane (PM) in living cells. In this system, an ER-spanning protein is expressed as a fusion with a tag protein and is chemically tethered to the PM by using a lipid-conjugated small-molecule ligand (i.e., self-localizing ligand) for the protein tag. This ER-PM crosslink generates ER-PM contact, and this synthetic contact can be reverted by the addition of a free (unmodified) ligand. With this approach, ER-PM contact formation and associated physiological functions were successfully controlled in living cells.

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

オルガネラ膜同士の近接により形成されるメンブレンコンタクト（以下、コンタクト）は、細胞内の脂質代謝やシグナル伝達において重要な役割を果たしている。しかし、その生理的役割や形成メカニズムには未解明の部分が多く残されており、それらの解明には生きた細胞内の任意のオルガネラ膜間のコンタクトを人工的に誘導可能なツールの開発が不可欠である。コンタクト形成を誘導する既存法として、Rapamycin による FKBP と FRB の化学誘導二量化を利用するものがあるが、可逆性がないためコンタクト解消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った。そのため、コンタクト形成の可逆制御が可能なツールの開発が望まれている。

今回我々は、小胞体と細胞膜（ER-PM）間のコンタクト形成を制御している ER 局在タンパク質 ORP5 に着目し、これを基に ER-PM コンタクトの形成を可逆操作する化学ツールを設計した。具体的には、ORP5 の PM 結合ドメインをタグタンパク質に置き換え、そこに PM に結合する脂質化修飾リガンド（局在性リガンド）を添加することで ER-PM 間を架橋させる。本ツールを用いることで、局在性リガンドの添加によって ER-PM コンタクトを誘導でき、さらに未修飾リガンドの添加によってコンタクトを解消することができた。また、コンタクト形成に伴う生理的機能（ER-PM 間の脂質交換輸送）の誘導や、光応答的なコンタクト制御システムの開発にも成功した。本発表では、生細胞内の ER-PM コンタクトを操作する新規化学ツールの詳細と、その展望について報告する。