

オルガネラ選択的脂質ラベリングの新展開 (1): 遺伝子スクリーニングへの展開

(京大院工¹・JST さきがけ²・JST ERATO³) ○土谷 正樹^{1,2}・浜地 格^{1,3}

New developments in organelle-selective lipid labeling (1): toward genetic screening (¹Graduate School of Engineering, Kyoto University, ²JST PRESTO, ³JST ERATO) ○Masaki Tsuchiya^{1,2}, Itaru Hamachi^{1,3}

We previously developed a technology for the selective labeling and fluorescence imaging of phosphatidylcholine (PC) in target organelles (*Nat. Chem. Biol.*, 16, 1361, 2020). This approach involves the metabolic incorporation of azido-choline into cellular phospholipids, followed by a spatially limited click reaction that enables the visualization and quantitative analysis of interorganelle lipid transport in live cells. Here we couple organelle-selective lipid labeling with CRISPR screening to identify key regulators of PC metabolism. In our genome-wide phenotypic screens with subcellular resolution, known genes involved in biosynthesis and intracellular trafficking of PC were enriched in the top-ranking genes. We also identified and validated previously uncharacterized proteins that modulate abundance of newly synthesized PC, highlighting the applicability of our lipid labeling technique to genetic screens.

Keywords : organelle-selective lipid labeling; CRISPR screening

これまでに我々はリン脂質ホスファチジルコリン (PC) のオルガネラ選択的な蛍光ラベル化とイメージング技術を開発した (*Nat. Chem. Biol.*, 16, 1361, 2020)。本戦略では、生細胞環境でアジドコリンを PC へと代謝導入した後、狙いのオルガネラに局限したクリック反応により、アジド化 PC を局所的に蛍光ラベル化する。今回、オルガネラ選択的脂質ラベリングを遺伝子スクリーニングに応用し、PC の代謝動態を制御するタンパク質群の同定を目指した。オルガネラごとの蛍光ラベル化 PC 量を FACS 解析する CRISPR-KO スクリーニングによって、我々は PC 合成・PC 輸送に関わる既知/新規のタンパク質を複数同定した。本発表にて、最新結果を報告したい。

