

【本件リリース先】

文部科学記者会、科学記者会、
広島大学関係報道機関

広島大学広報室

〒739-8511 東広島市鏡山 1-3-2

TEL : 082-424-6762 FAX : 082-424-6040

E-mail: koho@office.hiroshima-u.ac.jp

NEWS RELEASE



広島大学



理化学研究所

令和 8 年 7 月 29 日



細胞内「配送センター」ゴルジ体から輸送担体としてエンドソームが誕生
— 細胞膜へのタンパク質輸送の新たな仕組みを解明 —

論文掲載

【本研究成果のポイント】

- ① 本研究グループはこれまでに、細胞内物質輸送経路の1つである生合成経路(※1)において、ゴルジ体(細胞内の配送センターの役割を持つ)(※2)に、リサイクル配送センターの役割であるリサイクリングエンドソーム(※3)が接触し、生合成されたタンパク質(積荷)を受け取った後に、リサイクリングエンドソームがゴルジ体から離れて細胞膜へ輸送することを発見していました。しかしその詳細な過程を観察する方法がありませんでした。
- ② ゲノム編集(※4)により、ゴルジ体からリサイクリングエンドソームへの積荷輸送のタイミングを薬剤で自由に操作できる新しい方法を開発しました。
- ③ 上記細胞を用いて、積荷のゴルジ体からリサイクリングエンドソームへの輸送を開始し、超解像度高速共焦点レーザー顕微鏡(SCLIM)(※5)による観察を行った結果、リサイクリングエンドソームは既に存在するものが積荷を受け取るだけでなく、ゴルジ体の上で新たに作られながら積荷を取り込むことを発見しました。
- ④ 3次元電子顕微鏡観察(※6)により、新しく生まれたリサイクリングエンドソームがゴルジ体から伸びるクラスリン被覆(細胞内で物質を運ぶときに、その周りを覆って運搬を助けるタンパク質の殻)(※7)を含む数珠状の構造として形成されることが明らかになりました。本研究は、細胞内のタンパク質輸送のしくみの理解を深めるものであり、将来的には輸送異常に起因する疾患の解明や創薬研究への貢献が期待されます。

【概要】

ゴルジ体は、ホルモンや消化酵素などの分泌タンパク質や膜タンパク質の生合成に必要な細胞小器官(※8)であり、新しく作られたタンパク質(積荷)を加工して送り

出す「配送センター」のような役割を担っています。一方、リサイクリングエンドソームは、エンドサイトーシス(細胞が細胞外の物質を取り込む過程)(※9)によって細胞膜から取り込まれた膜タンパク質を取り込み、再び細胞膜へと戻します。このように、これまでこの2つは別々に働くと考えられていました。

広島大学大学院統合生命科学研究科の佐藤明子教授らのグループと理化学研究所光量子工学研究センターの中野明彦客員主管研究員らは、以前の研究(リリース①)によりリサイクリングエンドソームがゴルジ体からタンパク質(積荷)を受け取って細胞表面へ運ぶことを発見していました。

本研究では、新たに、積荷のゴルジ体からリサイクリングエンドソームへの輸送のタイミングを薬剤で可逆的に制御できるゲノム編集細胞を作成し、顕微鏡で観察中にゴルジ体からリサイクリングエンドソームへの輸送を開始した結果、積荷の局在するゴルジ体領域で、積荷を内包しながら新たにリサイクリングエンドソームが形成されることを見出しました。

また、積荷を内包した新生リサイクリングエンドソームが既存のリサイクリングエンドソームと融合することで、既存リサイクリングエンドソームへと積荷が受け渡されることが分かりました。

さらに、研究チームに同環境資源科学研究センターの豊岡公德上級技師らと広島大学コアファシリティーセンターの前田誠技師が加わり、3次元電子顕微鏡観察を行うことで、新生リサイクリングエンドソームがゴルジ体から伸びる数珠状構造体であること、この数珠状構造の一部がクラスリンにより被覆されていることが分かりました。

本研究成果は、Nature Communications に7月27日(月)日本時間19時に掲載されました。

【論文情報】

掲載雑誌名：Nature Communications

論文名: Reversible control of post-Golgi transport by brefeldin A reveals recycling endosome maturation during glycosylphosphatidylinositol-anchored protein transport

著者名：Arata Takiguchi¹, Ho Tung Shek¹, Shogo Sasaki¹, Tatsuya Tago¹, Taisei Uehara¹, Yumi Goto², Kiminori Toyooka², Kazuo Kurokawa³, Takuro Tojima⁴, Akihiko Nakano^{4,5}, Makoto Maeda⁶, Takunori Satoh^{1,3#}, Akiko K. Satoh^{1,3#}

所属：1) 広島大学大学院 統合生命科学研究科

2) 理化学研究所 環境資源科学研究センター 技術基盤部門
質量分析・顕微鏡解析ユニット

3) 理化学研究所 光量子工学研究センター
生細胞超解像イメージング研究チーム(研究当時)

4) 理化学研究所 光量子工学研究センター
生細胞超解像イメージング研究チーム(研究当時、
現画像情報処理研究チームの所属)

5) 東京科学大学 総合研究院高等研究府

6) 広島大学 コアファシリティーセンター

責任著者：佐藤明子・佐藤卓至

【背景】

ゴルジ体は、ホルモンや消化酵素などの分泌タンパク質や膜タンパク質の生合成に必要な細胞小器官であり、新しく作られたタンパク質（積荷）を加工して送り出す「配送センター」のような役割を担っています。一方、リサイクリングエンドソームは、エンドサイトーシス（細胞が細胞外の物質を取り込む過程）によって細胞膜から取り込まれた膜タンパク質を取り込み、再び細胞膜へと戻します。このように、これまでこの2つは別々に働くと考えられていました。

広島大学大学院統合生命科学研究科の佐藤明子教授らのグループと理化学研究所光量子工学研究センターの中野明彦客員主管研究員らは、以前の研究（リリース①）によりリサイクリングエンドソームがゴルジ体からタンパク質（積荷）を受け取って細胞表面へ運ぶことを発見していました。

今回、同研究チームは、積荷のゴルジ体からの搬出のタイミングを薬剤で可逆的に制御できる細胞をゲノム編集により作成することに成功し、この細胞を用いて積荷のゴルジ体からリサイクリングエンドソームへの移行過程を詳細に観察しました。

【研究成果の内容】

哺乳類の細胞に Brefeldin A（BFA）を投与すると、通常はゴルジ体の形成に必要な GBF1 というタンパク質の働きが阻害され、ゴルジ体が崩壊して小胞体に吸収されることが広く知られています。一方、本研究グループはこれまでに、ショウジョウバエでは BFA がポストゴルジ輸送に関与する Sec71 を特異的に阻害するため、ゴルジ体自体は維持されたまま、ゴルジ体からのタンパク質輸送のみが停止することを明らかにしていました（リリース②）。

そこで本研究では、哺乳類細胞の GBF1 遺伝子に BFA 耐性変異を導入することで、BFA 投与時にもゴルジ体が崩壊せず、Sec71 のヒトホモログである BIG1/2 のみを選択的に阻害できる新たな細胞株を作製しました。この細胞では、BFA を加えることで積荷タンパク質をゴルジ体内に蓄積させ、その後 BFA を除去することで、ゴルジ体からの積荷搬出を任意のタイミングで一斉に開始できることを示しました。

次に、この細胞を用いて積荷をゴルジ体内に蓄積させた状態で、超解像度高速共焦点レーザー顕微鏡（SCLIM）によるライブ観察を行いました。観察中に BFA を除去して輸送を再開させたところ、積荷が集まるゴルジ体領域において、新たなリサイクリングエンドソームが積荷を取り込みながら形成されることを発見しました。

さらに、既存のリサイクリングエンドソームは、この新生リサイクリングエンドソームと融合することでゴルジ体に接触し、積荷を受け取っていました。その後、リサイクリングエンドソームはゴルジ体から離れ、ポストゴルジ輸送担体（キャリア）として機能しながら積荷を細胞膜へ運搬する様子が観察されました。

また、BFA 除去前後の積荷の局在と膜構造を 3 次元電子顕微鏡法で解析したところ、ゴルジ体から数珠状の膜構造が伸びており、その内部に積荷が蓄積していることが明らかになりました。この数珠状構造の一部はクラスリンで被覆されており、さらにクラスリンアダプタータンパク質 AP-1 の局在も確認されました。

そこで AP-1 欠損細胞を作製して積荷輸送を解析した結果、AP-1 がなくても新生

リサイクリングエンドソームの形成は起こる一方で、リサイクリングエンドソームはゴルジ体から切り離されず、細長いチューブ状構造としてゴルジ体から伸び続けることが分かりました。

これらの結果から、AP-1 はゴルジ体とリサイクリングエンドソームの境界でクラスリン被覆小胞の形成を促し、両者を切り離す役割を担っている可能性が示されました。すなわち、ゴルジ体で生まれた新生リサイクリングエンドソームが成熟して独立した輸送担体となるためには、AP-1 を介した分離機構が重要であることが明らかになりました。

【今後の展開】

本研究では、エンドサイトーシスで機能すると考えられるエンドソームの 1 種であるリサイクリングエンドソームが、積荷のゴルジ体からの搬出に伴い、ゴルジ体の積荷の蓄積している領域より新たに生じることを示しました。今後は、どのようなメカニズムでリサイクリングエンドソームがゴルジ体から新規に形成されるのかを明らかにすることが重要だと考えています。また、本研究結果は、ゴルジ体とエンドソームの関係やエンドソームの定義を再考する必要性を示しており、今後、議論を促していくことが重要と考えています。

【参考資料】

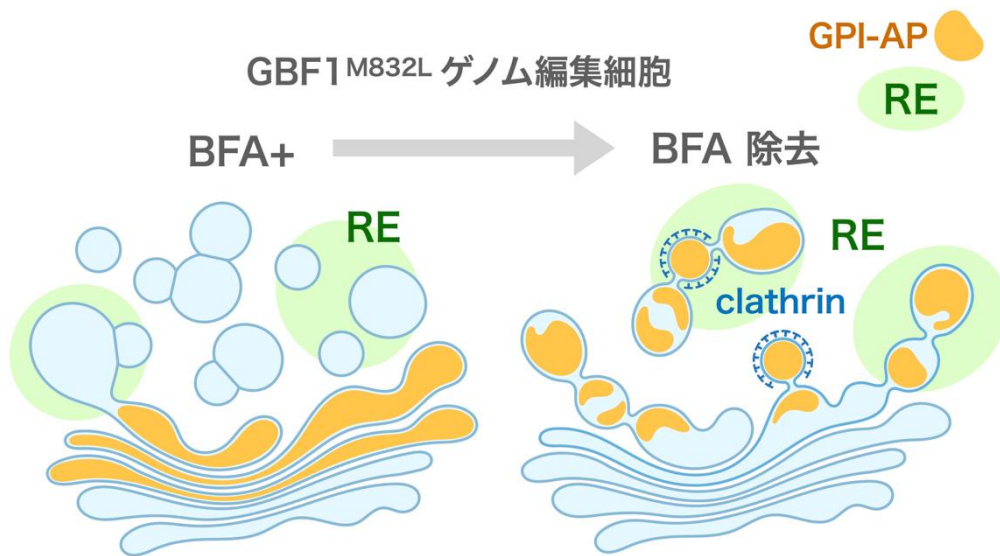


図 ゴルジ体シス側で機能する GBF1 に BFA 耐性変異を導入したゲノム編集細胞
この細胞では、BFA によりゴルジ体トランス側で機能する BIG1/2 を可逆的に阻害できる。小胞体からの積荷輸送を開始し BFA により積荷をゴルジ体トランス側に留めた後、BFA を除去することで、積荷の RE への輸送を任意のタイミングで一斉に開始できる。超解像度顕微鏡によるライブイメージングと 3 次元電子顕微鏡観察により、ゴルジ体トランス側でリサイクリングエンドソームが積荷（本論文では GPI-AP を用いた）を内包しながら新規に形成されること、リサイクリングエンドソームがクラスリンコートを含む数珠状構造であることが明らかとなった。

【用語解説】

(※1) 生合成経路

細胞内物質輸送経路の 1 つ。膜タンパク質や分泌タンパク質が小胞体で合成された後、ゴルジ体へ送られ、さらにゴルジ体から細胞膜や様々なオルガネラへと特異的に輸送される経路のこと。

(※2) ゴルジ体

ホルモンや消化酵素などの分泌タンパク質や膜タンパク質の生合成に必要な細胞小器官であり、一端(シス面)から新規タンパク質を受け取り、もう一端(トランス面)からタンパク質を送り出す。

(※3) リサイクリングエンドソーム

エンドサイトーシス(食作用・飲作用)によって細胞内に取り込んだ物質を再び細胞膜へと戻す役割をもつ細胞小器官。

(※4) ゲノム編集

DNA 配列を狙った場所で切断・改変することで、遺伝子の機能を壊したり、改変したりする技術。

(※5) 超解像度高速共焦点レーザー顕微鏡 (Super-resolution confocal live imaging microscopy: SCLIM)

理化学研究所 光量子工学研究センター 生細胞超解像度イメージング研究チーム (研究当時、中野明彦チームリーダー(研究当時))で開発された顕微鏡。冷却イメージングシステム、高速高感度カメラ、高速ピエゾ、スピニングディスク式共焦点ユニット、3色分光器などの組み合わせにより、時間分解能と空間分解能を高いレベルで両立させている。細胞内で速く動き回る微細な細胞小器官やタンパク質分子の動態を観察することができる。

(※6) 3次元電子顕微鏡観察

電子顕微鏡で取得した多数の断面画像をコンピューターで再構築し、細胞や細胞小器官の立体構造をナノメートルスケールで観察する手法。

(※7) クラスリン被覆

コートタンパク質であるクラスリンで覆われた領域。輸送するタンパク質を濃縮しており、多くの場合、その後クラスリン小胞として分離される。クラスリン小胞は、細胞内で特定のタンパク質や脂質を選んで運ぶ役割を担う。

(※8) 細胞小器官

細胞の生命活動を支えるために、それぞれ特定の役割を担う細胞内の小さな構造体。小胞体・ゴルジ体・エンドソーム・ミトコンドリアなど。

(※9) エンドサイトーシス

細胞が細胞外の物質を取り込む過程。食作用・飲作用ともいう。

リリース①: https://www.hiroshima-u.ac.jp/system/files/155919/20201217_pr03.pdf

リリース②: https://www.hiroshima-u.ac.jp/system/files/155867/20201217_pr02.pdf

【お問い合わせ先】

〈研究に関すること〉

広島大学大学院統合生命科学研究科 佐藤 明子 教授

TEL : 082-424-6507 FAX : 082-424-0759

E-mail : aksatoh@hiroshima-u.ac.jp

〈広報・報道に関すること〉

広島大学 広報室

TEL : 082-424-4383

E-mail : koho@office.hiroshima-u.ac.jp

理化学研究所 広報部 報道担当

TEL : 050-3495-0247

Email: ex-press@ml.riken.jp

発信枚数 : A4版 6枚