助成番号 160542	5－2

研 究 成 果 報 告 書

（国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース･登録原稿）

研究テーマ（和文） AB	リサイクリングエンドソームの分化と融合の分子メカニズム				
研究テーマ（欧文） AZ	The mechanism of budding and fusion of recycling endosomes.				
研究代表者氏名	カタカナ CC	姓）サトウ	名)アキコ	研究期間 B	2016 ～ 2017 年
	漢字 CB	佐藤	明子	報告年度 YR	2017 年
	ローマ字 CZ	Satoh	Akiko	研究機関名	広島大学
研究代表者 CD 所属機関・職名	広島大学 大学院 総合科学研究科 准教授				

概要 EA （600 字～800 字程度にまとめてください。）

ゴルジ体とトランスゴルジ網(TGN)/リサイクリングエンドソーム(RE)の位置関係は動植物種により異なっている。本研究者らは、動植物種を超えて TGN/RE の融合と解体という拮抗する 2 つの力がゴルジ体と TGN/RE の位置を保つ基本機構として共通に働いており、2 つの力の強弱がゴルジ体と TGN/RE の位置に違いを生むと考えている。本研究では TGN/RE の融合と解体に関わる因子を同定し、TGN/RE の集合と分散の違いを生む分子機構を解明することを目的として研究を行った。

本研究の申請段階で BFA 処理によりショウジョウバエのゴルジ体・RE が、哺乳類細胞のゴルジリボン・核周辺 RE に似た構造（BFA body）に変化する現象を見出していた。これは、BFA により失活するタンパク質が、ゴルジ体・RE の解体に関わる因子であることを意味している。BFA は BIG1 タイプの ARFGEF の一部に作用することが知られている。ショウジョウバエには BIG1 タイプの ARFGEF は Graz, Sec71 の 2 つしかないので、S2 細胞において、各々を欠損させたときに BFA-body が形成されるかどうかを検討した。RNAi 法と CRISPR 法により Graz, Sec71 の発現を減少、もしくは Graz, Sec71 のドミナントネガティブ変異タンパク質を発現させせることによって Graz, Sec71 の機能を欠損させたところ、いずれの方法を用いた場合にも、Graz 欠損がゴルジ体の喪失をもたらしたのに対して、Sec71 欠損では BFA-body 様構造が形成されることを見出した。これらの結果は TGN がゴルジ体・RE の解体を引き起こすことを示している。Sec71 は哺乳類において TGN からの小胞の形成を促進する BIG1/BIG2 のホモログと考えられる。従って、TGN/RE からの小胞の形成が、TGN/RE の解体のメカニズムとなっている可能性が考えられた。

本研究では、TGN/RE の融合に関わる因子の同定も計画していた。膜の融合に関わる SNARE ファミリータンパク質に属するタンパク質の中に、TGN/RE の融合に関わる因子が存在すると予測し、SNARE を RNAi により機能欠損させた細胞に BFA を投与したときに BFAbody の形成が阻害される SNARE を探す計画を立てた。しかしながら、現在までの所、このような SNARE の同定には至っていない。本研究期間は Graz, Sec71 の解析にほとんどの時と労力を使ったため、SNARE の RNAi 実験ままだ数回しか行っておらず、今後より集中して実験したいと考えている。

キーワード FA	ショウジョウバエ	SNARE	ARFGEF	ゴルジ体

（以下は記入しないでください。）

助成財団コード TA					研究課題番号 AA									
研究機関番号 AC					シート番号									

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題GB								
	著者名 GA		雑誌名 GC						
	ページ GF	〜	発行年 GE					巻号 GD	
雑誌	論文標題GB								
	著者名 GA		雑誌名 GC						
	ページ GF	〜	発行年 GE					巻号 GD	
雑誌	論文標題GB								
	著者名 GA		雑誌名 GC						
	ページ GF	〜	発行年 GE					巻号 GD	
図書	著者名 HA								
	書名 HC								
	出版者 HB		発行年 HD					総ﾍﾟｰｼﾞ HE	
図書	著者名 HA								
	書名 HC								
	出版者 HB		発行年 HD					総ﾍﾟｰｼﾞ HE	

欧文概要 EZ

In mammalian cells, Golgi stacks are interconnected and form Golgi-ribbon and localize near MTOC. Recycing endosomes (RE) are also interconnected and localize near MTOC. On the other hand, in Drosophila, Golgi stacks and RE are scattering in the cytoplasm. We found that Golgi stacks and REs gathered and made BFAbody by the treatment with Brefeldin A (BFA), which is resemble to the organization of RE and Golgi stacks in COS1 cells. Thus, we planned the identification of BFA target, and also the mechanism of BFAbody formation.

BFA typically binds to subsets of ARFGEF. In *Drosophila*, the candidate ARFGEFs are only Garz and Sec71.Thus, we reduced Garz or Sec71 activity by RNAi, CRISPR and dominant negative protein expressions and observed the formation of BFAbody in *Drosphila* culture cells, S2 cells. We found BFAbody is formed in S2 cells with low Sec71 activity. On the other hand, Golgi bodies are disappeared in S2 cells with low Garz activity. Thus, BFA target is Sec71.

We also tried to identify the factors, which are responsible for the formation of BFAbody. Unfortunately, we have not identified these factors yet. We will focus on the screening of the factors in near future.