

## ■ 教員紹介

准教授 芝 陽子 (shibay@iwate-u.ac.jp)



## ■ 磁場を用いた細胞内輸送の研究

ヒトの体はおよそ30兆個もの細胞でできています。細胞は細胞膜で囲われ、血液や組織液から栄養物などを輸送小胞へ取り込み、エンドソームやリソソームなど細胞小器官(オルガネラ)へ輸送し、分解しています。積荷は時に病原体や無機物、薬物など、細胞毒性のあるものであったりします。これらに対して、細胞はどのように応答するのでしょうか。

当研究室では、磁性ナノ粒子を細胞内に取り込ませ、外部から磁場を印加することで、オルガネラを内側から損傷できないか試みています。オルガネラ膜を損傷するメカニズムを明らかにすることで、病原体がエンドソーム膜から細胞質へ侵入する機構の解明や、薬剤の細胞質への膜透過を促進する技術の開発などに役立てたいと考えています。また磁性ナノ粒子を内包したオルガネラを細胞内に作ることで、新たな細胞操作技術になるかもしれません。

輸送小胞は細胞外へも分泌され、他の細胞にタンパク質や核酸を輸送できます。当研究室では輸送小胞へ積荷を選別するタンパク質ArfGAPファミリータンパク質の研究をしています。選別機構の研究は細胞内で加工された薬剤やナノ粒子などを細胞外へ分泌させたり分解させたりする技術の開発に貢献すると考えています。

## ■ 研究テーマ

- 磁性ナノ粒子の細胞内輸送とオルガネラ膜の物性の研究
- 細胞外小胞の形成機構の研究
- 血管内皮細胞の分泌顆粒への選別及び分泌機構の研究

## 磁性ナノ粒子を用いたオルガネラの膜損傷の研究

磁性ナノ粒子取り込み後20分で磁場を印加

外部のものを取り込んだら初期エンドソーム経路でリソソームへ輸送される

成長因子、磁性ナノ粒子、ウイルス、細胞膜、細胞質、初期エンドソーム、リソソーム、後期エンドソーム

ネオジム磁石で直流磁場、磁気コイルで交流磁場

20nmの磁性ナノ粒子(MNP) Gal3;膜損傷マーカー

磁場なし 直流, 20mT, 5min 交流, 20mT, 5min

Gal3/MN Gal3/MN Gal3/MN

共局在してない 共局在している 共局在してない

直流通場の時にGal3が磁性ナノ粒子の局在するオルガネラに共局在した。

リソソーム内の磁性ナノ粒子

100nm

磁性ナノ粒の取り込み後4時間

哺乳動物細胞は常に外部のものを飲み込んでいます。細胞膜が陥入して輸送小胞で取り込む過程をエンドサイトーシスと呼びます。病原体やナノサイズの粒子などもこの経路で取り込まれ、初期エンドソームに輸送されてから、後期エンドソーム、リソソームと輸送され、リソソームで分解されます。

当研究室では、初期エンドソームに取り込ませた磁性ナノ粒子の存在下で、磁場を印加すると、初期エンドソームが損傷できることを突き止めました。膜を透過する機構の解明は、感染機構の解明や、薬剤を膜を透過して細胞質へ輸送するDrug Delivery System(DDS)の技術開発に役立ちます。

## ArfGAPファミリーによる細胞内輸送の選別の研究

細胞外小胞は他の組織へタンパク質や核酸を輸送

Donor Cell 血流など Recipient cell 肺の細胞など

精製した細胞外小胞

200nm

ARAP1とADAP1を欠損させたがん細胞では細胞外小胞の積荷CD63が後期エンドソームへ輸送されない

AGFG2を欠損した血管内皮細胞ではvWFの分泌が阻害される

SMAP1を欠損させた血管内皮細胞では分泌顆粒の成熟が阻害される

血管内皮細胞の分泌顆粒 ヒスタミン刺激で止血因子vWFを分泌する

生合成経路とエンドサイトーシス経路 各輸送経路で異なるArfGAPが機能する

ヒトのArfGAPファミリー 31遺伝子ある

ASAP1/2/3, ACAP1/2/3, ARAP1/2/3, AGAP1/2, ADAP1/2, AGAP1-11

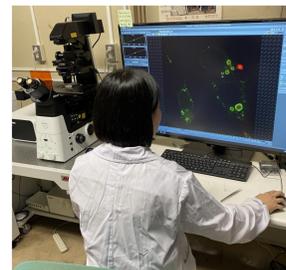
Control, SMAP1KD

vWF 10µm vWF

200nm

哺乳動物細胞には細胞内で合成したタンパク質などを外へ分泌する生合成経路と、外からモノを取り込むエンドサイトーシス経路があり、エンドソームやゴルジ体でそれらが混じり合います。芝はゴルジ体において積荷の選別過程にArfGAP1が関与することを明らかにしました。ヒトのArfGAPは31遺伝子存在しており、当研究室では各ArfGAPがどの輸送経路に関与するか同定してきました。実際、各ArfGAPはそれぞれ異なる輸送過程に関与することが明らかとなってきました。

なぜArfGAPにはたくさんの種類があるのでしょうか？当研究室では外から入ってくる危険な異物を選別するために、ArfGAP遺伝子が増えてきたのではないかと考えており、ArfGAPが異物をどのように認識するか明らかにします。



共焦点顕微鏡