

様式 C - 7 - 1

## 平成26年度科学研究費助成事業（科学研究費補助金）実績報告書（研究実績報告書）

1. 機関番号 

1	4	6	0	3
---	---	---	---	---

 2. 研究機関名 奈良先端科学技術大学院大学
3. 研究種目名 新学術領域研究（研究領域提案型） 4. 研究期間 平成25年度～平成29年度
5. 課題番号 

2	5	1	0	2	0	1	0
---	---	---	---	---	---	---	---
6. 研究課題名 生体分子素子の自己組織化による細胞の動的秩序形成

## 7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
2 0 2 2 3 2 1 6	イナガキ ナオユキ 稲垣 直之	バイオサイエンス研究科	教授

## 8. 研究分担者

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名

## 9. 研究実績の概要

本研究では、神経軸索伸長のためにシグナル伝達を力に変換する分子集合体をモデルシステムとして、生体分子素子の動的な構造変化や自己組織化を起点として、時間経過とともに、力の発生、さらには高次の細胞機能へと至る機構を、in vitro、神経細胞、人工再構築系を用いた複数の階層にまたがる一連の研究を通じて解明することを目指す。

我々のこれまでのin vitro 結合実験により、シグナル伝達によりリン酸化酵素PAK1がShootin1をリン酸化するとShootin1がCortactinを介してアクチン線維と集合体を形成することが解っている。また、前年度の研究から、Shootin1がPAK1によりリン酸化されることによりShootin1とL1の結合も促進することが解った。そこで、欠失変異体を用いたin vitro結合実験によりShootin1とCortactinの結合部位およびShootin1とL1の結合部位を同定した。さらに、Shootin1とCortactinとの結合を阻害するドミナントネガティブ変異体とShootin1とL1の結合を阻害するドミナントネガティブ変異体を作成して神経細胞に発現させた。その結果、Shootin1-Cortactin相互作用とShootin1-L1相互作用が軸索伸長のためのシグナル 力の変換に重要な役割を果たすことが明らかとなった。さらに、超分子質量分析装置を用いたNative mass解析により、Shootin1がin vitroで2量体を構成することも明らかとなった。

## 10. キーワード

(1) 神経細胞	(2) 軸索	(3) アクチン	(4) 自己組織化
(5) メカノバイオロジー	(6)	(7)	(8)

## 11. 現在までの達成度

(区分)(2) おおむね順調に進展している。

(理由)

26年度は、Shootin1-Cortactin相互作用とShootin1-L1相互作用が細胞内で軸索伸長のためのシグナル 力の変換に重要な役割を果たすことを解明した。さらに、Shootin1がin vitroで2量体を構成することも明らかとなった。このように、神経軸索伸長のためにシグナル伝達を力に変換する分子集合体の実態が着実に明らかとなりつつある、したがって期待通りの研究成果を挙げる事ができたと考えている。

## 12. 今後の研究の推進方策

(今後の推進方策)

今後は、Cortactin、Shootin1、L1からなる複合体がシグナル伝達によって活性化されて、どのように動的集合離脱を起こすのか、超分子質量分析装置を用いたNative mass解析、過渡回折格子法、X線溶液散乱測定法等によりさらに解析を進める。また、細胞内1分子計測、牽引力顕微鏡、遺伝子発現、RNAi法といった細胞生物学的手法を駆使して、神経細胞内におけるこれらの分子集合体の集合離脱と機能発現を解析する予定である。また、人工膜内でこれらの分子集合体を再構築することにより移動する人工細胞作製の作成を試みる。

## 13.研究発表(平成26年度の研究成果)

(雑誌論文) 計(1)件 うち査読付論文 計(0)件

著者名		論文標題			
加藤晃一、稲垣直之		融合集散が織りなす生命分子機能の研究フロンティア			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
実験医学	無	33	2015	1316-1320	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
なし					

(学会発表) 計(11)件 うち招待講演 計(4)件

発表者名		発表標題	
稲垣直之		Signal-force Transduction in Axon Outgrowth and Guidance	
学会等名	発表年月日	発表場所	
第66回日本細胞生物学会大会(招待講演)	2014年06月11日～2014年06月13日	奈良県新公会堂(奈良県奈良市)	

発表者名		発表標題	
久保祐亮、馬場健太郎、鳥山道則、小沢哲、池田和司、杉浦忠男、稲垣直之		Pak1により制御されるShootin1とCortactinの相互作用を介した軸索伸長のためのシグナル-力変換機構	
学会等名	発表年月日	発表場所	
第66回日本細胞生物学会大会	2014年06月11日～2014年06月13日	奈良県新公会堂(奈良県奈良市)	

発表者名		発表標題	
勝野弘子、鳥山道則、作村諭一、池田和司、水野健作、稲垣直之		アクチンの重合・脱重合によって引き起こされる軸索内タンパク質輸送	
学会等名	発表年月日	発表場所	
第66回日本細胞生物学会大会	2014年06月11日～2014年06月13日	奈良県新公会堂(奈良県奈良市)	

発表者名	発表標題	
阿部幸喜、小沢哲、作村諭一、稲垣直之	ラミニンに誘導される軸索形成におけるクラッチ分子Shootin1の役割	
学会等名	発表年月日	発表場所
第66回日本細胞生物学会大会	2014年06月11日～2014年06月13日	奈良県新公会堂(奈良県奈良市)

発表者名	発表標題	
馬場健太郎、久保祐亮、稲垣直之	Shootin1とL1の相互作用による軸索伸長のためのシグナルから力への変換機構	
学会等名	発表年月日	発表場所
第66回日本細胞生物学会大会	2014年06月11日～2014年06月13日	奈良県新公会堂(奈良県奈良市)

発表者名	発表標題	
稲垣直之、馬場健太郎、久保祐亮	生体分子素子の自己組織化による神経軸索の伸長と調節	
学会等名	発表年月日	発表場所
第14回日本蛋白質科学会(招待講演)	2014年06月27日	ワークピア横浜(神奈川県横浜市)

発表者名	発表標題	
稲垣直之	ラージゲルプロテオミクスを基盤とした神経細胞の軸索形成とガイダンスの解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
第65回日本電気泳動学会(招待講演)	2014年10月24日～2014年10月25日	横浜情報文化センター(神奈川県横浜市)

発表者名	発表標題	
H.Katsuno, M.Toriyama, Y.Hosokawa, K.Mizuno, K.Ikeda, Y.Sakumura, N.Inagaki	Directional actin turnover transports actin and associated proteins for early axonal outgrowth	
学会等名	発表年月日	発表場所
2014 American Society for Cell Biology Annual Meeting	2014年12月06日 ~ 2014年12月10日	Pennsylvania Convention Center (Philadelphia,USA)

発表者名	発表標題	
K.Abe, Y.Sakumura, N.Inagaki	Role of a clutch molecule shootin1 in laminin-induced axon formation	
学会等名	発表年月日	発表場所
2014 American Society for Cell Biology Annual Meeting	2014年12月06日 ~ 2014年12月10日	Pennsylvania Convention Center (Philadelphia,USA)

発表者名	発表標題	
N.Inagaki	Molecular assembly for signal-force transduction axon growth	
学会等名	発表年月日	発表場所
新学術領域研究「動的秩序」第3回国際シンポジウム(招待講演)	2015年01月10日 ~ 2015年01月11日	合歡の郷(三重県志摩市)

発表者名	発表標題	
Y.Kubo, K.Baba, M.Toriyama, T.Sugiura, S.Kozawa, K.Ikeda, N.Inagaki	Shootin1-cortactin interaction mediates signal-force transduction for axon outgrowth	
学会等名	発表年月日	発表場所
新学術領域研究「動的秩序」第3回国際シンポジウム	2015年01月10日 ~ 2015年01月11日	合歡の郷(三重県志摩市)

