

様 式 Z - 7

平成 2 7 年度科学研究費助成事業 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 基盤研究(B) (一般) 4. 研究期間 平成 2 6 年度 ~ 平成 2 8 年度
5. 課題番号

2	6	2	9	1	0	3	7
---	---	---	---	---	---	---	---
6. 研究課題名 細胞膜突出構造の膜形態制御機構と生理機能

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
7 0 3 4 5 0 3 1	スエツグ シロウ 末次 志郎	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

細胞の移動やがん細胞の浸潤転移などの様々な生命現象に関わる細胞膜の突起構造に関わる膜形態を制御するタンパク質として、膜の形態を直接結合することにより変形させる F - BAR ドメインを含有するタンパク質に注目する。F - BAR ドメインはこれまで、突起ではなく細胞膜の陥入構造に関与すると考えられてきた。しかし、CIP4 と GAS7 は、F - BAR ドメインを持つにもかかわらず突起構造への関与が見出されており、これまでと異なる作用機序を持つ可能性の高い。したがって、CIP4 と GAS7 の構造機能解析および細胞生物学的な解析を行う。CIP4 については、特異的な結合タンパク質を得た。本年度の研究では、前年度に確立した、CIP4 結合タンパク質の発現系を用い、結合タンパク質の生成を行った。次に、生化学的に CIP4 と特異的な結合タンパク質の脂質結合を調べるためのリボソーム共沈実験を行った。脂質結合実験の結果、CIP4 に加えて、程度の違いはあるものの、PACSIN2 や FBP17 と脂質の結合も抑制することを見出した。すなわち、CIP4 結合タンパク質として同定されたものの、多様な F - BAR ドメインタンパク質の機能を調節していることが示唆された。つまり、このタンパク質は、膜形態の一般的な制御因子となっている可能性を見出した。GAS7 については、すでに突出膜形成の関わる細胞機能に関わることを明らかにしている。本年度の研究では、GAS7 の F - BAR ドメインの構造解析に成功した。GAS7 の F - BAR ドメインは、これまで構造が解明されている F - BAR ドメインに照らし、幾つかのユニークな特徴を有していることがわかった。さらに、GAS7 全長の結晶の作成にも成功した。また変異導入を進め、脂質結合面を明らかにした。その結果、機能する膜構造と立体構造の関連について示唆を得ることができた。

10. キーワード

- (1) 細胞生物学 (2) _____ (3) _____ (4) _____
 (5) _____ (6) _____ (7) _____ (8) _____

(注) ・印刷に当たっては、A 4 判 (縦長) ・両面印刷すること。

(1 / 7)

11. 現在までの進捗状況

(区分)(2) おおむね順調に進展している。

(理由)

CIP4の結合タンパク質については、当初よりも結合するタンパク質の種類が多いことが示唆され、膜形態の一般的な制御因子となっている可能性を見出した。このことは当初期待していたよりも広範囲の細胞機能を調節できることを示唆している。GAS7については、構造機能解析が順調に進んでいる。

12. 今後の研究の推進方策 等

(今後の推進方策)

YPELについては、様々なBARドメインとの結合を調べ、共結晶の作成を目指す。また生化学的、細胞生物学的解析を進める。GAS7については、試験管内においても脂質膜と結合し、脂質膜の形状を変化させると考えられる。従って、試験管内で精製脂質により構成した人工脂質膜と反応させ、その形状の変化を電子顕微鏡を用いて調べる。さらに、結合する脂質分子に特異性がないか検討する。さらに、分子の並びを超解像解析などにより同定することを目指す。

(次年度使用額が生じた理由と使用計画)

(理由)

当初予定していた立体構造解析のための試薬類が、すでに保有していた試薬により間に合ったため購入せずに済んだため。

(使用計画)

2016年度のタンパク質精製や構造機能解析のための試薬の購入に充てる予定である。

13. 研究発表(平成27年度の研究成果)

(雑誌論文) 計(5)件/うち査読付論文 計(5)件/うち国際共著論文 計(2)件/うちオープンアクセス 計(4)件

著者名		論文標題				
Senju Y, Rosenbaum E, Shah C, Hamada-Nakahara S, Itoh Y, Yamamoto K, Hanawa-Suetsugu K, Daumke O, Suetsugu S.		Phosphorylation of PACSIN2 by protein kinase C triggers the removal of caveolae from the plasma membrane.				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著	
J Cell Sci.	有	128	2 0 1 5	2766-2780	該当する	
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)						
10.1242/jcs.167775						
オープンアクセス						
オープンアクセスとしている(また、その予定である)						

著者名		論文標題				
Itoh Y, Kida K, Hanawa-Suetsugu K, Suetsugu S.		Yeast Ivy1p Is a Putative I-BAR-domain Protein with pH-sensitive Filament Forming Ability in vitro.				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著	
Cell Struct Funct.	有	41	2 0 1 6	1-11	-	
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)						
10.1247/csf.15014						
オープンアクセス						
オープンアクセスとしている(また、その予定である)						

著者名		論文標題				
Senju Y, Suetsugu S.		Possible regulation of caveolar endocytosis and flattening by phosphorylation of F-BAR domain protein PACSIN2/Syndapin II.				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著	
Bioarchitecture	有	5	2 0 1 5	70-77	該当する	
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)						
10.1080/19490992.2015.1128604.						
オープンアクセス						
オープンアクセスとしている(また、その予定である)						

(課題番号: 26291037)

(注)・印刷に当たっては、A4判(縦長)・両面印刷すること。

(3/7)

著者名		論文標題				
Suetsugu S.		Higher-order assemblies of BAR domain proteins for shaping membranes.				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著	
Microscopy (Oxf)	有	IN PRESS	2 0 1 6	IN PRESS	-	
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)						
10.1093/jmicro/dfw002						
オープンアクセス						
オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難						

著者名		論文標題				
末次志郎, 高橋重成, 伊藤弓弦, 竹村和浩, 嶋田 陸, 北尾彰朗, 森 泰生		TRPV4イオンチャネルのアンキリンリピートドメインとPI(4,5)P2の相互作用による新たな制御機構				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著	
生物物理	有	55	2 0 1 5	262-265	-	
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)						
10.2142/biophys.55.262						
オープンアクセス						
オープンアクセスとしている(また、その予定である)						

(学会発表) 計(6)件/うち招待講演 計(1)件/うち国際学会 計(1)件

発表者名		発表標題	
末次 志郎		The identificaiton of the ankyrin repeat domain as a novel lipid-binding module	
学会等名	発表年月日	発表場所	
第53回日本生物物理学会年会(招待講演)(国際学会)	2015年09月14日	金沢大学(石川県金沢市)	

発表者名	発表標題	
北又 学、末次 志郎	ANKHD1の脂質結合を介した小胞形成能の同定	
学会等名	発表年月日	発表場所
第67回日本細胞生物学会大会	2015年07月02日	タワーホール船堀(東京都江東区)

発表者名	発表標題	
千住 洋介、末次 志郎	PACSIN2のリン酸化によるカベオラ細胞膜局在の負の制御	
学会等名	発表年月日	発表場所
BMB2015(第38回日本分子生物学会年会、第88回日本生化学会大会 合同大会)	2015年12月04日	神戸ポートアイランド(兵庫県神戸市)

発表者名	発表標題	
BARタンパク質エンドフィリンの膜切断活性とがんにおける変異	木田 和輝、北又 学、塙 京子、末次 志郎	
学会等名	発表年月日	発表場所
BMB2015(第38回日本分子生物学会年会、第88回日本生化学会大会 合同大会)	2015年12月01日	神戸ポートアイランド(兵庫県神戸市)

発表者名	発表標題	
福永 優也、塙 京子、末次 志郎 ¹	新規結合タンパク質によるF-BARタンパク質CIP4の管状形成阻害	
学会等名	発表年月日	発表場所
BMB2015(第38回日本分子生物学会年会、第88回日本生化学会大会 合同大会)	2015年12月01日	神戸ポートアイランド(兵庫県神戸市)

発表者名	発表標題	
多羅尾 賢斗、塙 京子、末次 志郎	IRSp53の上皮間葉転換における役割	
学会等名	発表年月日	発表場所
BMB2015(第38回日本分子生物学会年会、第88回日本生化学会大会 合同大会)	2015年12月01日	神戸ポートアイランド(兵庫県神戸市)

(図書) 計(0)件

著者名	出版社		
書名	発行年	総ページ数	

14. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

(出願) 計(0)件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	出願年月日	国内・外国の別

(取得) 計(0)件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	取得年月日	国内・外国の別
				出願年月日	

15. 科研費を使用して開催した国際研究集会

(国際研究集会) 計(0)件

国際研究集会名	開催年月日	開催場所

16. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

(1) 国際共同研究: 国際共同研究である

共同研究相手国	相手方研究機関			
Germany	MDC	-	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-
-	/	/	/	/

17. 備考