

様 式 F - 7 - 2

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）実績報告書（研究実績報告書）

所属研究機関名称		奈良先端科学技術大学院大学	機関番号	1 4 6 0 3
研究 代表者	部局	先端科学技術研究科		
	職	教授		
	氏名	末次 志郎		

1．研究種目名 挑戦的研究（萌芽） 2．課題番号 17K19529

3．研究課題名 アンキリンリピートによるBARドメイン様の脂質膜の形態制御機構の研究

4．補助事業期間 平成29年度～令和元年度

5．研究実績の概要

アンキリンリピートドメインは、33アミノ酸のユニットが繋がって、バナナのような湾曲した構造をとることが多い。ANKHD1は全体で25リピートを持つことから、アンキリンリピートドメインの部分のみで1500アミノ酸を超える大きなタンパク質である。他の膜変形ドメインとしてよく解析されているBARドメインタンパク質は、250-300アミノ酸であることを考えると、1分子で、BARドメイン数分子に相当する大きさとなる。立体構造予測をもとに、脂質膜と相互作用するアミノ酸残基をアミノ酸の点変異により同定し、試験管内での再構成実験により、脂質膜との相互作用および切断機序を同定した。具体的には、立体構造予測において、バナナ状の大きな足場部分とその近傍の両親媒性ヘリックス部分の両方が脂質膜との相互作用に重要であることに加え、正電荷を持つアミノ酸の重要性を示した。

ゴルジ体は、小胞体（ER）やエンドソーム、細胞膜へ小胞を放出し、またこれらのオルガネラから小胞を受け取っている。したがって、これらのオルガネラにおけるANKHD1の局在を調べるとともに、ANKHD1の過剰発現やRNAiによるノックダウンで、これらのオルガネラの形態がどのように変化するか、様々なマーカートンパク質に対する抗体を用いるなどして調べた。また、脂質膜の切断をおこなうANKHD1のタンパク質断片を発現させ、局在する細胞内小器官の形成、消失を、オルガネラマーカートンパク質の抗体染色により調べ、ついでWestern blottingによりタンパク質量の増減を調べることで、オルガネラの増加や減少を調べた。予備的な実験結果から、エンドソームにおける機能を見出しているため、特にエンドソームマーカートンパク質であるRab5やEEA1などとの共局在を調べた。また昨年度精製に成功したANKHD1の様々なタンパク質断片を用いて、脂質膜の切断機序を詳しく解析し、また、電子顕微鏡を用いて、脂質膜の切断を確かめた。

6．キーワード

アンキリン 膜変形

7．研究発表

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 5件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 5件）

1．著者名 Putri DDP, Kawasaki T, Murase M, Sueyoshi T, Deguchi T, Ori D, Suetsugu S, Kawai T.	4．巻 294
2．論文標題 PtdIns3P phosphatases MTMR3 and MTMR4 negatively regulate innate immune responses to DNA through modulating STING trafficking	5．発行年 2019年
3．雑誌名 J Biol Chem	6．最初と最後の頁 8412-8423
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1074/jbc.RA118.005731	査読の有無 有
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）	国際共著 -

2 版

1. 著者名 Kitamata M, Hotta M, Hamada-Nakahara S, Suetsugu S.	4. 巻 25
2. 論文標題 The membrane binding and deformation property of vaccinia virus K1 ankyrin repeat domain protein.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Genes Cells.	6. 最初と最後の頁 187-196
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12749	査読の有無 有
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	国際共著 -

1. 著者名 Nguyen LP, Tran SC, Suetsugu S, Lim YS, Hwang SB.	4. 巻 94
2. 論文標題 PACSIN2 Interacts with Nonstructural Protein 5A and Regulates Hepatitis C Virus Assembly.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Virol.	6. 最初と最後の頁 e01531-19
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/JVI.01531-19	査読の有無 有
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	国際共著 該当する

1. 著者名 Hanawa-Suetsugu K, Itoh Y, Ab Fatah M, Nishimura T, Takemura K, Takeshita K, Kubota S, Miyazaki N, Wan Mohamad Noor WNI, Inaba T, Nguyen NTH, Hamada-Nakahara S, Oono-Yakura K, Tachikawa M, Iwasaki K, Kohda D, Yamamoto M, Kitao A, Shimada A, Suetsugu S.	4. 巻 10
2. 論文標題 Phagocytosis is mediated by two-dimensional assemblies of the F-BAR protein GAS7.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nat Commun.	6. 最初と最後の頁 4763
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-019-12738-w	査読の有無 有
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)	国際共著 -

1. 著者名 Kitamata M, Hanawa-Suetsugu K, Maruyama K, Suetsugu S.	4. 巻 17
2. 論文標題 Membrane-Deformation Ability of ANKHD1 Is Involved in the Early Endosome Enlargement.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 101-118
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2019.06.020	査読の有無 有
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)	国際共著 -

1. 著者名 AG Amir, K Takemura, K Hanawa-Suetsugu, K Oono-Yakura, K Yasuhara, Kitao A, Suetsugu S.	4. 巻 -
2. 論文標題 Regulation of caveolae through cholesterol-depletion dependent tubulation by PACSIN2/Syndapin II	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1101/2020.03.25.008854	査読の有無 無
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)	国際共著 -

1. 著者名 Kida K, Kitamata M, Ikeda K, Takemura K, Inaba T, Hayashi Y, Hanawa-Suetsugu K, Kamikubo H, Kitao A, Arita M, Suetsugu S	4. 巻 -
2. 論文標題 Membrane Deformation Switching of an Endocytic Protein by Membrane Electrostatic Charge and Packing	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 SSRN	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2139/ssrn.3471315	査読の有無 無
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)	国際共著 -

〔学会発表〕 計19件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 6件)

1. 発表者名 M. Osuga, Tamako Nishimura, Shiro Suetsugu
2. 発表標題 Development of the Green Photo-switchable Fluorescent Protein with Fixation Resistance a Variant of Eos Fluorescent Protein.
3. 学会等名 ASCB/EMBO 2019 meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 W. N. I. Wan Mohamad Noor, Tamako Nishimura, Shiro Suetsugu
2. 発表標題 In-vitro FRET Analysis of Growth Arrest-Specific Protein7 (GAS7).
3. 学会等名 ASCB/EMBO 2019 meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

2 版

1. 発表者名 M. Kitamata, Shiro Suetsugu
2. 発表標題 Membrane Deformation Ability of the Ankyrin Repeat and KH Domain-containing Protein 1 (ANKHD1) and Its Involvement in the Early Endosome Enlargement.
3. 学会等名 ASCB/EMBO 2019 meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shiro Suetsugu
2. 発表標題 The mode switch of endophilin membrane deformation based on packing-defects and electrostatic charge
3. 学会等名 第60回国際脂質生物学会ICBL2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 末次 志郎
2. 発表標題 The role of the lipid composition on the membrane deformation by the BAR domain proteins
3. 学会等名 EMBO Workshop Caveolae and nanodomains: Translating structural principles and dynamics into function (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Aini Gusmira, Shiro Suetsugu
2. 発表標題 The role of tension and cholesterol in membrane re-modeling by PACSIN2/Syndapin II F-BAR domain.
3. 学会等名 EMBO Workshop of Caveolae and Nanodomains:Translating Structural Principles and Dynamics Into Function (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中村 暢明、西村 珠子、末次 志郎
2. 発表標題 The roles of I-BAR domain proteins on the secretion of Wnts on microvesicles.
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高橋 茉奈美、西村 珠子、塙 京子、末次 志郎
2. 発表標題 Domain-specific regulation of microvesicle secretion by a protrusion-producing I-BAR domain protein, IRSp53
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 上田 結奈、塙 京子、西村 珠子、稲葉 岳彦、末次 志郎
2. 発表標題 I-BAR facilitates transport from the cytoplasm to the outside of the cell
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 西村 珠子、大山 拓也、Hooi Ting Hu、塙 京子、末次 志郎
2. 発表標題 Microvesicle formation through the scission of plasma membrane by the I-BAR protein MIM
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

2 版

1. 発表者名 末次 志郎、西村 珠子、重根 桂、日朝 祐太、大竹 義人、佐藤 嘉伸
2. 発表標題 The possible applications of the data science to cell biology by a cell biologist
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hooi Ting Hu、Tamako Nishimura、Shiro Suetsugu
2. 発表標題 The interaction between I-BAR domain proteins and ALIX in the formation and release of extracellular vesicles
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 重根 桂、西村 珠子、日朝 祐太、大竹 義人、佐藤 嘉伸、末次 志郎
2. 発表標題 Attempt to description of cell morphology based on the protein localization using machine learning
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 北又 学
2. 発表標題 ANKHD1の新規膜変形活性と初期エンドソームの小胞形成への関与の同定
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 末次 志郎
2. 発表標題 脂質膜組成によるBARドメインタンパク質の脂質膜変形活性の変換
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 西村 珠子
2. 発表標題 I-BARタンパク質MIMによる細胞膜切断を介したマイクロベシクル形成機構
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 稲葉 岳彦、北又 学、木田 和輝、末次 志郎
2. 発表標題 脂質膜組成によるエンドサイトーシスに関するタンパク質の活性変換
3. 学会等名 第61回日本脂質生化学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 末次 志郎
2. 発表標題 The membrane re-modeling by the BAR domain superfamily proteins dependent on the composition of lipids
3. 学会等名 第71回日本細胞生物学会大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

2 版

1．発表者名 北又 学、塙 京子、丸山 耕平、末次 志郎
2．発表標題 ANKHD1の新規小胞形成能と初期エンドソームの形態制御への関与の同定
3．学会等名 第71回日本細胞生物学会大会
4．発表年 2019年

〔図書〕 計0件

8．研究成果による産業財産権の出願・取得状況

計0件（うち出願0件／うち取得0件）

9．科研費を使用して開催した国際研究集会

計0件

10．本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

-

11．備考

-