

様 式 F - 7 - 1

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）実施状況報告書（研究実施状況報告書）（令和２年度）

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

1．研究種目名

基盤研究(C)(一般)

2．課題番号

20K06625

3．研究課題名

細胞間接着の形成と維持におけるI-BARタンパク質を介した細胞膜の制御機能の解明

4．補助事業期間

令和２年度～令和４年度

5．研究実績の概要

上皮細胞は、隣接する同種細胞との間に細胞間接着を形成する。しかしながら、細胞間接着の形成における細胞膜の役割については不明な点が多い。BARファミリータンパク質は、二量体で脂質膜に結合して、かつ多量体を形成することにより、膜の形態を制御する。BARタンパク質サブファミリーのひとつであるI-BARタンパク質は、突出膜の形成を制御する。しかしながら、細胞間接着の形成・維持におけるI-BARタンパク質の関与は明らかでない。そこで、I-BARタンパク質が細胞膜の突起構造を形成し、細胞間接着の形成を制御する分子メカニズムを検討した。

I-BARタンパク質をノックアウトした上皮細胞で細胞間接着分子の分布を調べたところ、細胞間接着分子のlateral面の分布がdiffuseになることがわかった。また、I-BARタンパク質をノックアウトした細胞の細胞層で、細胞層の透過性が上昇した。また、I-BARタンパク質遺伝子上流にmVenusをノックインしたCaco2細胞株を用いてライブ観察を行い、細胞間接着の形成時におけるI-BARタンパク質の挙動を詳しく観察したところ、接着形成直前のラメリボディアにI-BARタンパク質が分布する現象を見出した。

細胞間接着におけるI-BARタンパク質とアクチン繊維の動態の相関性を調べるため、現在、I-BARタンパク質の上流にmVenusをノックインした細胞に、Lifeact-mCherryを安定的に発現する細胞を作製中である。また、mVenusノックイン細胞を使った免疫沈降を行い、MS解析によりI-BARタンパク質と相互作用する分子を探索中である。

6．キーワード

BARタンパク質 細胞間接着

7．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	交付申請書に記載した実施計画をほぼ予定通り行い、おおむね期待通りの成果を得ることができた。 I-BARタンパク質のノックアウト細胞でのフェノタイプを調べ、I-BARタンパク質遺伝子上流にmVenusをノックインしたCaco2細胞株でライブ観察を行った。現在、ノックイン細胞やI-BARタンパク質ノックアウト細胞にmCherry-Lifeactを発現した細胞、I-BARタンパク質のノックアウト細胞にI-BARタンパク質の全長や欠失変異体を発現したレスキュー細胞を現在作製中である。また、ノックイン細胞を用いて、I-BARタンパク質と相互作用する分子を探索中である。

3 版

8．今後の研究の推進方策

令和2年度の研究成果に基づき、その発展を図る。例えば、I-BARタンパク質と相互作用して細胞間接着を制御するタンパク質を同定し、その作用機序を調べる。さらに、I-BARタンパク質の上流に点滅蛍光タンパク質をノックインした細胞を作製し、超解像顕微鏡で観察することにより、I-BARタンパク質の分子レベルでの分布を調べる。

9．次年度使用が生じた理由と使用計画

これまでに研究を効率的に、かつ試薬購入を計画的に進めた結果、直接経費を予定よりも節約することができた。翌年度の実験計画において、抗体やsiRNAを各々複数個購入する必要が見込まれるため、翌年度分の助成金と合わせて効率的かつ計画的に使用する予定である。

10．研究発表（令和2年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1．著者名 Tamako Nishimura*, Takuya Oyama*, Hooi Ting Hu*, Toshifumi Fujioka* et al. (*:equally contributed)	4．巻 56
2．論文標題 Filopodium-derived vesicles produced by MIM enhance the migration of recipient cells	5．発行年 2021年
3．雑誌名 Developmental Cell	6．最初と最後の頁 842～859.e8
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.devcel.2021.02.029	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 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1．発表者名 藤岡 敏史、西村 珠子、末次 志郎
2．発表標題 F-BARタンパク質CIP4の細胞運動への関与
3．学会等名 第43回日本分子生物学会
4．発表年 2020年

1. 発表者名 西村珠子、大山拓也、Hooi Ting Hu、末次志郎
2. 発表標題 The extracellular vesicle formation by filopodial scission for cell migration
3. 学会等名 第58回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西村珠子、大山拓也、Hooi Ting Hu、末次志郎
2. 発表標題 細胞膜突起の切断による小胞形成
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西村珠子、大山拓也、Hooi Ting Hu、末次志郎
2. 発表標題 I-BARタンパク質MIMによるマイクロベシクル形成機構とその生理作用
3. 学会等名 第72回日本細胞生物学会大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

1 1. 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）

1 2. 科研費を使用して開催した国際研究集会

計0件

1 3. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

-

【研究代表者・所属研究機関控】

日本学術振興会に紙媒体で提出する必要はありません。

3 版

1 4 . 備考

細胞間の情報伝達に関わる細胞外微粒子の新たな形成機構を解明
<https://bsw3.naist.jp/research/index.php?id=2256>