

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）（平成29年度）

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	14603
研究者 代表者	部局	バイオサイエンス研究科		
	職	助教		
	氏名	末次 京子（嬢京子）		

1. 研究種目名 基盤研究(C)(一般) 2. 課題番号 16K07351

3. 研究課題名 脂質膜突起形成I-BARタンパク質による新規分泌小胞形成機構の解明

4. 補助事業期間 平成28年度～平成30年度

5. 研究実績の概要

BAR (Bin-Amphiphysin-Rvs161/167) タンパク質は、脂質結合能を有するBARドメインを持つタンパク質の総称であり、BARドメインは、ドメイン同士が規則正しく重合しチューブ構造を形成することが出来る。そのチューブ構造の内側もしくは外側には、プラスの電荷をもったアミノ酸が局在しており、BARタンパク質は脂質膜と電気的結合をすることが出来る。従って、脂質膜はBARタンパク質の立体構造を鋳型とするチューブ構造に誘導されることが、試験管内の実験により示されている。実際の細胞内では、エンドサイトーシスにみられるような細胞表面の凹構造や、ラメリボディアやフィロボディアに代表される細胞膜の突起構造形成に、BARタンパク質が関与していることが知られている。

本研究では細胞膜突起構造に関するBARタンパク質は、細胞表面上でたんに脂質膜突起構造の誘導を行っているだけではなく、細胞膜突起は切断され、細胞外小胞形成を誘導しているのではないかと考え、その仮説を検証することを目的としている。

平成29年度は、平成28年度に作成した脂質膜突起誘導型BARタンパク質をノックアウトした頸部がん細胞、グリオーマ腫瘍細胞、HeLa細胞のノックアウト株を用いて、研究を進めた。その結果、脂質膜突起誘導型BARタンパク質が細胞増殖に関与している可能性を示唆する結果を得ることが出来た。また、これらの細胞から細胞外小胞を抽出し、タンパク質のマススペクトル解析を行うことが出来た。

6. キーワード

細胞膜 脂肪酸 細胞膜形態 細胞外小胞 脂質膜切断

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
平成28年度に作成した脂質膜突起誘導型BARタンパク質をノックアウトした頸部がん細胞、グリオーマ腫瘍細胞、HeLa細胞のノックアウト株を用いて、細胞増殖能を調べた結果、脂質膜突起誘導型BARをノックアウトした細胞は細胞増殖能に影響を与えることが示唆された。これが何に起因するかを調べる為に、培養に用いた培養液から細胞外小胞を精製し、マススペクトル分析を行った。現在、脂質膜突起誘導型BAR依存的に作られる細胞外小胞に含まれるタンパク質の同定を行っている。

2 版

8. 今後の研究の推進方策

前年度に引き続き、脂質膜突起誘導型BARタンパク質による脂質膜切断機構を明らかにするため、マスマスペクトル解析のデータをもとに、脂質膜突起誘導型BARタンパク質依存的に作られる細胞外小胞に含まれるタンパク質の同定を行う。また、脂質膜突起誘導型BARをノックアウトした細胞の細胞増殖能の低下は細胞外小胞に依存するものかどうかを検証する。さらに、B16メラノーマ細胞の脂質膜突起誘導型BARタンパク質ノックアウト細胞をマウスに尾静脈注射することにより、脂質膜突起誘導型BARタンパク質ががん細胞の転移に寄与しているかどうかを検証する。

9. 次年度使用が生じた理由と使用計画

次年度使用額が無いため、記入しない。

10. 研究発表（平成29年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Tachikawa M, Morone N, Senju Y, Sugiura T, Hanawa-Suetsugu K, Mochizuki A, Suetsugu S.	4. 巻 7
2. 論文標題 Measurement of caveolin-1 densities in the cell membrane for quantification of caveolar deformation after exposure to hypotonic membrane tension.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 1-14
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-017-08259-5.	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 Takemura K, Hanawa-Suetsugu K, Suetsugu S, Kitao A.	4. 巻 28
2. 論文標題 Salt Bridge Formation between the I-BAR Domain and Lipids Increases Lipid Density and Membrane Curvature.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 1-10
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-017-06334-5.	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 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 K. Kida, M. Kitamata, Kyoko Hanawa and Shiro Suetsugu
2. 発表標題 Membrane scission activity of Endophilin A2 depending on phospholipid composition.
3. 学会等名 ASCB/EMBO 2017 meeting (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 埴 京子、木田 和輝、大山 拓也、末次 志郎
2. 発表標題 脂肪酸に依存したBARドメインの脂質膜形態形成
3. 学会等名 第40回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 笹倉直人、矢倉加代子、埴京子、末次志郎
2. 発表標題 細胞外小胞形成におけるIRSp53の役割
3. 学会等名 第40回日本分子生物学会年会・第90回日本生化学会大会 合同大会(ConBio)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 北又学、埴京子、丸山耕平、末次志郎
2. 発表標題 ANKHD1による小胞形成と細胞機能の解析
3. 学会等名 第40回日本分子生物学会年会・第90回日本生化学会大会 合同大会(ConBio)
4. 発表年 2017年

2 版

1. 発表者名 堀田光國、北又学、埴京子、末次志郎
2. 発表標題 ワクシニアウイルスを用いた脂質結合タンパク質のスクリーニング
3. 学会等名 第40回日本分子生物学会年会・第90回日本生化学会大会 合同大会(ConBio)
4. 発表年 2017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

-

1 4. 備考

-