

令和 2 年 5 月 14 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H03803

研究課題名(和文) EF-ハンド蛋白質ALG-2のカルシウムストレス応答因子としての生理機能解明

研究課題名(英文) Elucidation of physiological functions of the EF-hand protein ALG-2 as a calcium-stress response factor

研究代表者

牧 正敏 (MAKI, Masatoshi)

名古屋大学・生命農学研究科・特任教授

研究者番号：40183610

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：Ca²⁺結合蛋白質ALG-2の機能を明らかにするため、ALG-2のCa²⁺依存の相互作用因子を探索し新たに4つの因子を同定した。MISSLと微小管結合蛋白質MAP1Bは協調して小胞体からゴルジ体への積荷輸送調節に関与した。ALG-2は小胞体膜貫通蛋白質であるSARAFと結合し、SARAF蛋白質の分解制御に係るユビキチン修飾を抑制した。CDIP1は内膜系に分布し、Ca²⁺/ALG-2存在下でESCRT-1と結合し細胞死を促進した。また、リソソーム膜損傷時におけるALG-2の集積について解析した。さらに、Ca²⁺作用効果をモニターする新しいCa²⁺応答性レポーター遺伝子測定系を確立した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ALG-2(アポトーシス関連遺伝子2、別名PDCD6)は細胞死に関わり、がんの進行・予後の診断マーカーへの応用が期待されている。蛋白質-蛋白質間相互作用因子の探索を行い、新規相互作用因子を同定した。そして、分子細胞生物学的研究により、機能未知因子の生理機能解析を行い、生理学・細胞生物学領域における基礎的知見の蓄積に貢献した。また、新しい高感度Ca²⁺応答性レポーター遺伝子測定系の開発により食品成分や薬剤等の評価システムへの応用が期待される。

研究成果の概要(英文)：Ca²⁺ is a signaling molecule that plays important roles in eukaryotic cells. In order to investigate the physiological functions of Ca²⁺-binding protein ALG-2, we searched and identified four new ALG-2-interacting proteins. MISSL accumulates at endoplasmic reticulum (ER) exit sites with ALG-2 upon increase in cytosolic Ca²⁺ concentrations. It cooperates with microtubule associated protein 1B (MAP1B) to regulate vesicular transport of cargoes from the ER to the Golgi apparatus. ALG-2 binds single-pass ER transmembrane protein named SARAF and suppresses ubiquitination of SARAF. CDIP1 localizes at the endomembrane systems and binds a subset of ESCRT-1 proteins in the presence of Ca²⁺/ALG-2 to promote cell death. We analyzed recruitment of ALG-2 to lysosomes upon impairment of lysosomal membranes. We established a new high sensitive Ca²⁺-response reporter gene assay system to monitor effects of Ca²⁺. The system is expected to apply to evaluate food constituents and drugs.

研究分野：応用生物化学

キーワード：カルシウム結合蛋白質 小胞輸送 小胞体 蛋白質 蛋白質間相互作用 細胞死 ユビキチン レポーター遺伝子測定 微小管結合蛋白質

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

カルシウムイオン (Ca^{2+}) は、動物細胞の内側は外側と比較して 1-2 万倍も濃度が低く保たれており、細胞内濃度の変化情報が様々な Ca^{2+} 応答性蛋白質に伝えられる。そして、それらの働きにより細胞機能調節がなされるが、 Ca^{2+} 濃度の恒常性維持の破綻は細胞にとってストレスとなり死をもたらす。申請者らはこれまでに、かつて動物細胞においてアポトーシス関連蛋白質として発見された ALG-2 が様々な因子と Ca^{2+} 依存的に相互作用する Ca^{2+} 結合蛋白質であり、5 つの EF ハンドをもつ penta-EF-hand ファミリーに属することを明らかにしてきた。ALG-2 が認識する部位の結合モチーフを明らかにし、それを基に探索して得られた新たな相互作用蛋白質候補の中には、 Ca^{2+} チャネル制御因子や Ca^{2+} 応答性転写因子、また機能未知の因子が含まれていた。しかし、これらの新規候補因子が細胞内の生理的条件下で果たして相互作用するかどうか検証が必要であり、候補因子の生理的機能は不明のままであった。

2. 研究の目的

ALG-2 結合モチーフ様配列をもつ MISSL、NFAT、SARAF、CDIP1 について ALG-2 との Ca^{2+} 依存的結合を生化学的に検証することを第一の目的とした。次に、生理機能がすでに報告されている因子 (NFAT および SARAF) については、ALG-2 との結合が機能に及ぼす影響を明らかにすること、また機能不明あるいは情報に乏しい因子 (MISSL および CDIP1) については、相互作用因子ネットワーク探索や細胞内局在解析をもとに、生理機能を明らかにした上で ALG-2 が及ぼす効果を明らかにすることを第二の目的とした。

3. 研究の方法

- (1) ALG-2 と調査対象蛋白質との相互作用を下記に示す種々の方法を用いて解析した。野生型および変異体の蛍光蛋白質、Strep やエピトープタグ等付加蛋白質の培養動物細胞発現と、抗体による免疫沈降やプルダウン法による結合解析。抗体を用いた ALG-2 のウェスタンブロット検出および発光酵素 NanoLuciferase (NanoLuc) 融合 ALG-2 のルシフェラーゼ活性測定。市販あるいは組換え体蛋白質のウサギ免疫による自家製抗体の作製と共免疫沈降実験による内在性蛋白質との相互作用確認。質量分析による共免疫沈降産物の同定。
- (2) 共焦点レーザー蛍光顕微鏡を用いて蛍光免疫染色法あるいは蛍光蛋白質融合体の観察により細胞内局在を明らかにした。
- (3) Ca^{2+} インディケーター蛍光蛋白質である R-GECO1 あるいは GEM-GECO1 を培養動物細胞に発現させ、共焦点レーザー顕微鏡を用いて、細胞刺激に伴う Ca^{2+} 動態を Ca^{2+} イメージング法により解析した。
- (4) 基質特異性が異なる二種類の発光酵素 NanoLuc をレポーター遺伝子、トランスフェクション効率補正用のコントロールとしてホタル Luciferase (FLuc) 遺伝子を用い、発光測定による Ca^{2+} シグナル効果解析システムを構築した。
- (5) 解析対象とする標的遺伝子の過剰発現あるいは発現抑制の効果を調べた。発現抑制は siRNA を用いた RNA 干渉法あるいは CRISPR/Cas9 システムによる遺伝子ノックアウトにより行った。
- (6) NanoLuc の大小分断酵素の再会合による活性回復を応用した HiBiT テクノロジーを利用して標的蛋白質の検出と定量的解析を行った。

4. 研究成果

(1) ALG-2 は COPII 小胞外殻構成因子 Sec31A と アネキシン A11 のアダプターとして小胞体 ゴルジ体間輸送の制御をしていることはすでに分かっていたが、新たな制御因子を発見した。機能不明であった MISSL が細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇に伴い小胞体出芽部位で ALG-2 と共局在し、MISSL あるいは ALG-2 を発現抑制させるとプロコラーゲン I の小胞体からゴルジ体への輸送効率が低下することが判明した。また、MISSL の相互作用因子として微小管結合蛋白質 MAP1B を同定した。MISSL と MAP1B の結合は Ca^{2+} 依存的であり、ALG-2 がアダプターとして MAP1B と MISSL との結合を担っていること、COPII 小胞の積荷であるコラーゲンの輸送調節には MAP1B も関与していること、さらに、ALG-2 の MAP1B 結合部位は従来とは異なるモチーフをもつことを明らかにした。

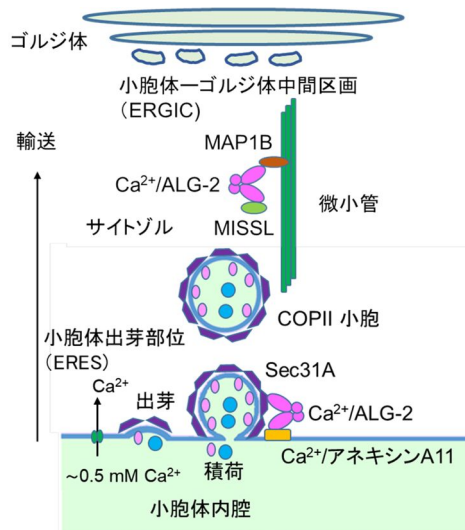


図1 小胞体—ゴルジ体間輸送におけるALG-2 および相互作用因子の役割

(2) ALG-2 は、 Ca^{2+} 依存性転写因子 NFAT1 および NFAT3 を過剰発現させた場合には相互作用を検出することができたが、その結合は弱く、ALG-2 と内在性 NFAT との結合を検出することはできなかった。従来、NFAT の活性化を指標にしたレポーター遺伝子測定系は IL-2 遺伝子のプロモーター由来 NFAT 応答配列 (NFAT-RE) が用いられており、この遺伝子発現誘導には Ca^{2+} による NFAT の活性化のみならず、同時にプロテインキナーゼ C による転写因子 AP1 の活性化も必要であり、解析が複雑であった。IL-8 遺伝子のプロモーターがもつ

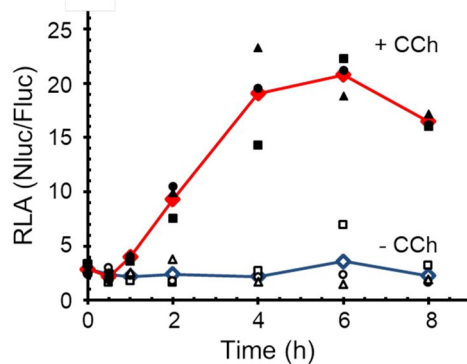


図2 新たに構築したNFAT-RE (IL-8) レポーター遺伝子測定系を用いたカルバコール (CCh) 刺激効果

NFAT 二量体結合 NFAT-RE 配列を用いることにより、 Ca^{2+} イオノフォア刺激のみによるレポーター遺伝子発現測定系の構築に成功した。そしてムスカリン型アセチルコリン受容体 (mAChR) アゴニストである Carbachol (CCh) で HEK293 細胞を刺激したときの NFAT 活性化をモニターすることが可能となり、刺激後 2 時間でも検出できた。

(3) ALG-2 結合モチーフ 2 型の配列をもつ新規相互作用蛋白質候補 12 種類および既知相互作用因子 Sec31A の断片と蛍光蛋白質 SGFP2 を融合させ、抗 SGFP2 抗体の免疫沈降産物を用いて Nluc 融合 ALG-2 との結合を定量した結果、ストア作動性 Ca^{2+} 流入 (SOCE) 制御因子として報告されている SARAF のサイトゾルドメインが Sec31A の次に強い結合を示した。SARAF の特異抗体を調製し、HEK293 細胞、HeLa 細胞および MCF7 細胞を用いて共免疫沈降実験を行った結果、ALG-2 は内在性の SARAF と Ca^{2+} 存在下で

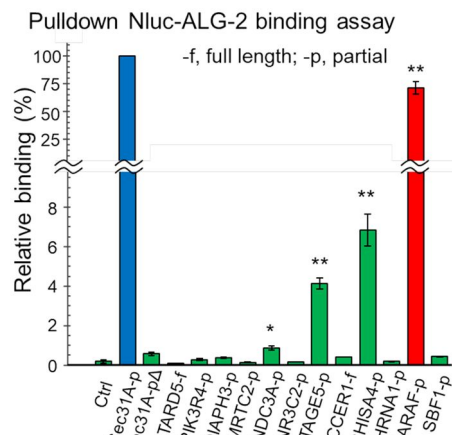


図3 各新規相互作用因子候補とNluc-ALG-2 との定量的結合解析結果

相互作用することが明らかとなった。ALG-2 結合モチーフ中に存在する Phe228 を Ser に置換した F228S 変異体は ALG-2 との結合能を消失した。また、SARAF は WW ドメインと HECT ドメインをもつ Nedd4 ファミリー E3 リガーゼ WWP1 によってユビキチン修飾を受け、WWP1 の結合部位を同定するとともに、ALG-2 がユビキチン修飾を抑制することが分かった。SARAF サイトゾル領域に存在する 2ヶ所の Lys を Arg に置換した変異体のユビキチン修飾が消失すること、この変異体は蛋白質合成阻害剤シクロヘキシミド添加後の残存量測定解析の結果、野生型と比較して蛋白質分解が抑制されていることが判明した。SARAF が SOCE に及ぼす影響を Ca^{2+} イメージング法により解析したが、実験条件では有意な影響を検出することはできなかった。しかし、統計的有意差は認められなかったが、野生型の SARAF はコントロールと比較して Carbachol 刺激後の小胞体からの Ca^{2+} 遊離量を抑制し、F228S 変異体は抑制しない傾向が観察された。測定条件の最適化など検討すべき課題が残された。

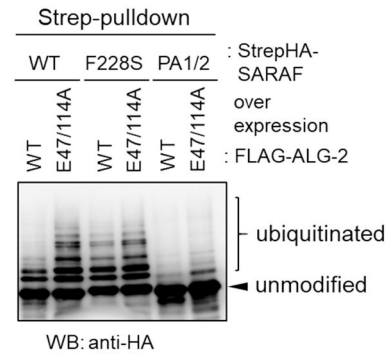


図4 StrepHAタグ付加SARAFのユビキチン修飾に対するALG-2の抑制効果
WT, 野生型; E47/114A, Ca^{2+} 結合能喪失
ALG-2変異体; F228S, ALG-2結合能喪失
SARAF

影響を Ca^{2+} イメージング法により解析したが、実験条件では有意な影響を検出することはできなかった。しかし、統計的有意差は認められなかったが、野生型の SARAF はコントロールと比較して Carbachol 刺激後の小胞体からの Ca^{2+} 遊離量を抑制し、F228S 変異体は抑制しない傾向が観察された。測定条件の最適化など検討すべき課題が残された。

(4) CDIP1 (Cell death-inducing p53-target protein 1) は ALG-2 結合モチーフ様の配列をもち、共免疫沈降実験により ALG-2 と相互作用することが明らかとなった。また、CDIP1 はエンドソーム選別輸送複合体 (ESCRT) -I の構成因子 TSG101 結合モチーフをもち、相互作用する他の ESCRT-I 構成因子との組み合わせには選択性があった。また、CDIP1 はアポトーシス促進作用をもち、ESCRT-I との結合によってその作用が増強されることが分かった。

(5) リソソームは種々の分解酵素を含み、飲食作用 (エンドサイトーシス) や自食作用 (オートファジー) によって取り込んだ生物物質の分解とリサイクルに必要な物質の供給を司る酸性細胞小器官であり、細胞内栄養状態を感知して作用するキナーゼ複合体 mTORC1 の活性制御にも関わっている。また、刺激に伴い内腔の Ca^{2+} がサイトゾルに遊離されることでシグナル伝達が進行することも知られている。 Ca^{2+} 遊離に関与する一過性受容体電位型チャネル TRPML1 (別名 mucolipin-1) が ALG-2 と物理的に相互作用し、後期エンドソーム・リソソームで ALG-2 と共存する報告があり、これを検証した。しかし、我々が実施した半定量的相互作用解析では極めて結合力は弱く、生理的な相互作用因子として働く可能性は低いと思われる。一方、リソソームは膜が損傷して分解酵素などの漏出は細胞毒となり、膜の損傷が生じると軽度の場合は修復、重度の場合はリソソームの自食 (リソファジー) が生ずる。ALG-2 および ESCRT 関連因子が損傷リソソームに集積することは既に報告があったが、ALG-2 が損傷リソソームに集積する様子について共焦点レーザー顕微鏡を使い時空間的に解析し、またアネキシンや ALIX などの遺伝子発現抑制を行い、ALG-2 集積の仕組みを明らかにするために必要な基礎的解析ツールの樹立を行った。

(6) ALG-2 が MAP1B と相互作用することは我々が明らかしたが、MAP1B は細胞死に関与する Death associated protein kinase 1 (DAPK1) と相互作用し、また、DAPK1 も ALG-2 と物理的に結合することが報告されていた。これを我々の解析方法で検証したところ DAPK1 と ALG-2 の結合は見出されなかった。また、MAP1B が増殖細胞密度制御に係る Hippo 経路キナーゼ Mst1 のよってリン酸化されることを明らかにした。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Shibata H	4. 巻 83
2. 論文標題 Adaptor functions of the Ca ²⁺ -binding protein ALG-2 in protein transport from the endoplasmic reticulum.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biosci Biotechnol Biochem	6. 最初と最後の頁 20-32
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/09168451.2018.1525274	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 Takahara T, Inoue K, Arai Y, Kuwata K, Shibata H, Maki M.	4. 巻 292
2. 論文標題 The calcium-binding protein ALG-2 regulates protein secretion and trafficking via interactions with MISSL and MAP1B proteins.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Biol Chem	6. 最初と最後の頁 17057-17072
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1074/jbc.M117.800201	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 Takahara T, Arai Y, Kono Y, Shibata H, Maki M	4. 巻 497
2. 論文標題 A microtubule-associated protein MAP1B binds to and regulates localization of a calcium-binding protein ALG-2.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun	6. 最初と最後の頁 492-498
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2018.02.048	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 Zhang W, Takahara T, Achiha T, Shibata H, Maki M	4. 巻 19
2. 論文標題 NanoLuciferase Reporter Gene System Directed by Tandemly Repeated Pseudo-Palindromic NFAT-Response Elements Facilitates Analysis of Biological Endpoint Effects of Cellular Ca ²⁺ Mobilization	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci	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） 10.3390/ijms19020605	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 Maki M	4. 巻 84
2. 論文標題 Structures and functions of penta-EF-hand calcium-binding proteins and their interacting partners: enigmatic relationships between ALG-2 and calpain-7.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biosci Biotechnol Biochem	6. 最初と最後の頁 651-660
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09168451.2019.1700099	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 牧正敏, 高原照直, 柴田秀樹	4. 巻 91
2. 論文標題 カルシウム依存的相互作用因子から探るpenta-EF-handファミリーの機能	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 生化学	6. 最初と最後の頁 191-209
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14952/SEIKAGAKU.2019.910191	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31件(うち招待講演 1件/うち国際学会 5件)

1. 発表者名 小倉健輔、河野雄太、柴田秀樹、牧正敏、高原 照直
2. 発表標題 Hippo経路因子Mst1による微小管結合タンパク質MAP1B制御を介した細胞機能制御の解析
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 杉山理紗、池田奈央、石井千愛、柴田秀樹、牧正敏、高原照直
2. 発表標題 mTORC1経路制御におけるアミノ酸依存的Ca ²⁺ シグナルの役割の解析
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 池田奈央、石井千愛、杉山理紗、雨宮優奈、柴田秀樹、牧正敏、高原照直
2. 発表標題 TSC2のGAP活性調節におけるcalmodulinの役割の解析
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 牧正敏
2. 発表標題 生体情報応答性カルシウム結合蛋白質およびその相互作用因子に関する構造と機能
3. 学会等名 日本農芸化学会関西・中部支部 2019年度合同神戸大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松下明理、高原照直、桑田啓子、牧正敏、柴田秀樹
2. 発表標題 近接依存性標識法を用いた小胞体の輸送小胞出芽部位に局在するタンパク質の網羅的探索
3. 学会等名 日本農芸化学会関西・中部支部 2019年度合同神戸大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高原照直、池田奈央、杉山理紗、石井千愛、柴田秀樹、牧正敏
2. 発表標題 アミノ酸応答性mTORC1制御におけるカルシウムシグナルの意義
3. 学会等名 日本農芸化学会 関西・中部支部 2019年度合同神戸大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川野琢己、林本敬大、高原照直、牧正敏、柴田秀樹
2. 発表標題 損傷リソソームへのカルシウム結合タンパク質の動員とその役割の解析
3. 学会等名 第19回 日本蛋白質化学会年会 第71回 日本細胞生物学会大会 合同年次大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mori K, Inukai R, Takahara T, Maki M, Shibata H
2. 発表標題 Adaptor function of a calcium-binding protein ALG-2 in doxorubicin-induced apoptosis
3. 学会等名 第70回 日本細胞生物学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Maki M, Zhang W, Muramatsu A, Teranishi N, Matsuo R, Takahara T, Shibata H
2. 発表標題 The penta-EF-hand ALG-2 protein interacts with the SOCE regulator SARAF and interferes with ubiquitylation
3. 学会等名 European Calcium Society (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 犬飼隆太、森可奈子、高原照直、柴田秀樹、牧正敏
2. 発表標題 DNA傷害誘発性アポトーシスにおけるカルシウムイオン結合タンパク質ALG-2のアポトーシス促進性機能の解析
3. 学会等名 第41回 日本分子生物学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 寺西直樹、村松彩夏、張維、高原照直、柴田秀樹、牧正敏
2. 発表標題 SARAFとNedd4 ファミリーE3ユビキチンリガーゼとの相互作用解析
3. 学会等名 第41回 日本分子生物学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 河野雄太、新居裕美香、高原照直、柴田秀樹、牧正敏
2. 発表標題 微小管結合タンパク質MAP1Bを介したアポトーシス誘導経路の解析
3. 学会等名 第41回 日本分子生物学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 村松彩夏、張維、寺西直樹、河原由衣、高原照直、柴田秀樹、牧正敏
2. 発表標題 SARAFのユビキチン修飾におけるALG-2の役割とPPxY配列の関与
3. 学会等名 第41回 日本分子生物学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 林本敬大、川野琢己、高原照直、牧正敏、柴田秀樹
2. 発表標題 損傷リソソームへのアネキシンA11とALG-2の動員とその生理的役割の解析
3. 学会等名 アネキシン研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 阿知波卓也, 張維, 高原照直, 柴田秀樹, 牧正敏
2. 発表標題 カルシウム応答性NFATレポーター測定によるTRPチャネルの機能評価
3. 学会等名 2019年度 日本農芸化学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 林本敬大, 柴田秀樹, 川野琢己, 高原照直, 牧正敏
2. 発表標題 リソソーム傷害部位へのカルシウム結合タンパク質ALG-2の動員
3. 学会等名 2019年度 日本農芸化学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 牧 正敏
2. 発表標題 生体情報応答性カルシウム結合蛋白質およびその相互作用因子に関する構造と機能
3. 学会等名 2019年度 日本農芸化学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 張維, 松尾里奈, 寺西直樹, 阿知波卓也, 高原照直, 柴田秀樹, 牧正敏
2. 発表標題 ストア作動性Ca ²⁺ 流入におけるEF-hand蛋白質ALG-2の役割
3. 学会等名 日本生化学会中部支部例会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hideki Shibata, Takahiro Hayashimoto, Terunao Takahara, Stephen E. Moss, Masatoshi Maki.
2. 発表標題 Role of Annexin A11 in response to calcium mobilization analyzed by time-lapse live-cell imaging
3. 学会等名 The 9th International Conferences on Annexins (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 新居裕美香、井上国子、高原照直、柴田秀樹、牧正敏
2. 発表標題 カルシウムシグナルによる分泌経路の新規制御メカニズム解析
3. 学会等名 日本農芸化学会中部支部第180回例会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 林本敬大、柴田秀樹、高原照直、牧正敏
2. 発表標題 アネキシンA11とそのALS関連変異体の過剰発現がもたらすカルシウムホメオスタシスへの影響
3. 学会等名 日本農芸化学会中部支部第180回例会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 河野雄太、新居裕美香、高原照直、柴田秀樹、牧正敏
2. 発表標題 微小管結合タンパク質MAP1B内のCa ²⁺ を介した新規機能領域の同定と解析
3. 学会等名 日本農芸化学会中部支部第180回例会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Wei Zhang, Rina Matsuo, Takuya Achiha, Naoki Teranishi, Ayaka Muramatsu, Terunao Takahara, Hideki Shibata and Masatoshi Maki.
2. 発表標題 Ca ²⁺ -binding protein ALG-2 may function in modulating Ca ²⁺ homeostasis by interacting with SARAF
3. 学会等名 20th International Symposium on Calcium Binding Proteins and Calcium Function in Health and Disease (CaBP20) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Terunao TAKAHARA, Kuniko INOUE, Yumika ARAI, Keiko KUWATA, Hideki SHIBATA, and Masatoshi MAKI
2. 発表標題 The calcium-binding protein ALG-2 binds to novel ALG-2 interacting proteins, MISSL and MAP1B, and regulates the secretory pathway
3. 学会等名 20th International Symposium on Calcium Binding Proteins and Calcium Function in Health and Disease (CaBP20) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Ryuta Inukai, Chihiro Suzuki, Terunao Takahara, Hideki Shibata, Masatoshi Maki
2. 発表標題 The penta-EF-hand protein ALG-2 functions as an adaptor in apoptotic pathway
3. 学会等名 20th International Symposium on Calcium Binding Proteins and Calcium Function in Health and Disease (CaBP20) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 阿知波卓也、張維、寺西直樹、村松彩夏、松尾里奈、高原照直、柴田秀樹、牧正敏
2. 発表標題 ストア作動性カルシウム流入(SOCE)に応答するNIuc NFATレポーター系の開発
3. 学会等名 ConBio2017 生命科学系学会合同年次大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 河野 雄太、新居 裕美香、高原 照直、柴田 秀樹、牧 正敏
2. 発表標題 微小管結合タンパク質MAP1B内のCa ²⁺ を介した新規機能領域の同定と解析
3. 学会等名 ConBio2017 生命科学系学会合同年次大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 新居 裕美香、井上 国子、高原 照直、柴田 秀樹、牧 正敏
2. 発表標題 カルシウム結合タンパク質ALG-2はMISSL、MAP1Bと結合して分泌経路を制御する
3. 学会等名 ConBio2017 生命科学系学会合同年次大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 松下明理、高橋維朝、林本敬大、高原照直、柴田秀樹、牧 正敏
2. 発表標題 小胞体のCOP11小胞体出芽領域におけるカルシウム・イメージングとカルシウムチャンネルの探索
3. 学会等名 2018年度日本農芸化学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森可奈子、犬飼隆太、高原照直、柴田秀樹、牧 正敏
2. 発表標題 アポトーシス促進蛋白質CDIP1に対するALG-2のカルシウム依存的アダプター機能の解析
3. 学会等名 2018年度日本農芸化学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 村松彩夏、張 維、寺西直樹、高原照直、柴田秀樹、牧 正敏
2. 発表標題 ストア作動性Ca ²⁺ 流入調節因子SARAFの翻訳後修飾におけるALG-2の役割
3. 学会等名 2018年度日本農芸化学会大会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 Zhang W, Matsuo R, Takahara T, Shibata H, Maki M	4. 発行年 2019年
2. 出版社 Humana Press	5. 総ページ数 779
3. 書名 High Sensitive Quantitative Binding Assays Using a Nanoluciferase-Fused Probe for Analysis of ALG-2-Interacting Proteins. Part of the Methods in Molecular Biology book series Vol. 1929, pp501-516. In: Calcium-Binding Proteins of the EF-Hand Superfamily (Ed. Claus W. Heizmann)	

1. 著者名 Zhang W, Takahara T, Achiha T, Shibata H, Maki M	4. 発行年 2019年
2. 出版社 Humana Press	5. 総ページ数 779
3. 書名 Cellular Ca ²⁺ -Responding Nanoluciferase Reporter Gene System Directed by Tandemly Repeated Pseudo-palindromic NFAT-Response Elements. Part of the Methods in Molecular Biology book series Vol. 1929, pp95-109. In: Calcium-Binding Proteins of the EF-Hand Superfamily (Ed. Claus W. Heizmann)	

〔産業財産権〕

〔その他〕

名古屋大学大学院生命農学研究科分子細胞制御学研究室ホームページ http://www.agr.nagoya-u.ac.jp/~mcr/

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	柴田 秀樹 (SHIBATA Hideki) (30314470)	名古屋大学・生命農学研究科・准教授 (13901)	
研究 分担者	高原 照直 (TAKAHARA Terunao) (90708059)	名古屋大学・生命農学研究科・講師 (13901)	
研究 協力者	桑田 啓子 (KUWATA Keiko)		
研究 協力者	張 維 (ZHANG Wei)		