

令和 4 年 2 月 14 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H04016

研究課題名(和文) エンドソームとミトコンドリアの物理的相互作用と機能連関による細胞機能の調節機構

研究課題名(英文) Regulation of cell function by physical and functional interaction between the endosome and mitochondria

研究代表者

大場 雄介 (Ohba, Yusuke)

北海道大学・医学研究院・教授

研究者番号：30333503

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,800,000円

研究成果の概要(和文)：細胞内小器官(オルガネラ)は、単独の機能に加えて他のオルガネラとの相互作用を介して、さまざまな細胞機能の調節に関与する。しかし、細胞生理機能とオルガネラ間相互作用をつなぐ分子メカニズムは未だ完全には理解されていない。本研究では、低分子量Gタンパク質Rasとその標的分子 phosphoinositide 3-kinase (PI3K) によるエンドサイトーシスの制御因子として同定されたミトコンドリア外膜タンパク質 voltage-dependent anion channel 2 (VDAC2) が、ミトコンドリア - エンドサイトーシス相互作用を司り、エンドソームの成熟化を制御することを見出したので報告する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

オルガネラ間相互作用については、分泌タンパク質のエキソサイトーシスの輸送過程や、エンドサイトーシスによる物質の取り込み過程に加え、オートファゴソーム形成における小胞体 - ミトコンドリア接触やコレステロール輸送におけるリソソーム - ペルオキシソーム間の相互作用などが最近明らかになってきた。本研究成果はエンドソームとミトコンドリアによる新規オルガネラ間相互作用を同定し、そのエンドソーム成熟化における重要性を見出したもので、様々な疾患の病態理解や治療戦略策定に応用可能な成果である。

研究成果の概要(英文)：Intracellular organelles are involved in the regulation of a variety of cellular functions through the interactions with other organelles, in addition to their own functions. However, the molecular mechanism that links cell physiological functions to interorganelle interactions has yet to be analyzed. In this study, we show that the mitochondrial outer membrane protein voltage-dependent anion channel 2 (VDAC2), which was identified as a regulator of endocytosis for signaling from the small G protein Ras and its target molecule phosphoinositide 3-kinase (PI3K), governs the mitochondria-endosome interaction and subsequent endosome maturation.

研究分野：細胞生理学

キーワード：細胞内小器官 蛍光イメージング

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

- (1) これまで我々は、フェルスター共鳴エネルギー移動 (FRET) や蛍光タンパク質再構成法 (BiFC) 等のイメージング手法を用いて、生きた細胞でのシグナル伝達を可視化してきた。また、低分子量 G タンパク質 Ras と標的分子群の複合体の挙動を追跡し、Ras と PI3K の複合体が細胞膜からエンドソームへ移行すること、エンドソームでの PI3K 活性化に Ras が必要であることを発見した。その後の一連の研究によって、細胞内小器官と膜輸送、特にエンドソームとエンドサイトーシスは、シグナル伝達機構に高度に制御されているとともに、積極的なシグナルプラットフォームとして機能することを明らかにしてきた。
- (2) その後、Ras-PI3K 複合体のエンドソーム移行制御の分子メカニズム解明を目指し、PI3K のアミノ酸配列を解析することで、Ras-PI3K のエンドソーム局在とエンドサイトーシス亢進に必須なアミノ酸配列を同定し、RAPEL と命名した。そして、RAPEL 結合因子が Ras-PI3K 複合体のエンドソーム移行とエンドサイトーシス制御に関与することを示唆する知見を得た。そこで、RAPEL 結合因子をスクリーニングしたところ、興味深いことに、候補因子の中には複数のミトコンドリア物質輸送関連分子が含まれていた。
- (3) ミトコンドリアとエンドソームの相互作用の既報はないため、両者の細胞内局在を注意深く観察した。すると、両者の一過性コンタクトが観察された。また、同定された因子の一つ VDAC2 と Ras-PI3K 複合体との共局在も観察された。すなわち、同定された候補因子はエンドソームとミトコンドリアのインターフェースを形成していることが示唆された。
- (4) 細胞内オルガネラは細胞生理機能に必須の役割を担っているが、それぞれの固有の機能に加えて、オルガネラ間相互作用を介した機能も注目されている。我々は、エンドソームとミトコンドリア膜の物理的相互作用を見出すとともに、Ras-PI3K とその結合因子の結合がこの相互作用を制御している可能性を見出し、本研究計画の着想に至った。

2. 研究の目的

- (1) 本研究ではエンドソームとミトコンドリアの物理的相互作用と機能連関を解析し、それによる細胞生理機能の調節機構を明らかにする。RAPEL 結合タンパク質として同定されたミトコンドリア分子と Ras-PI3K との相互作用により、エンドサイトーシスやエンドソームの構造と機能にどのような変化が生じるか、さらにはそれらが細胞生理機能全体にどのような役割を演じているのかを解明する。研究手法としては、主に蛍光バイオイメージング技術を用い、オルガネラ間の機能連関に関する新しいパラダイムの展開を目指す。

3. 研究の方法

- (1) 細胞培養: HEK293T、A431、HeLa 細胞は ATCC から入手した。これらを、10% 牛胎児血清添加 DMEM 培地 (Sigma-Aldrich) で、37 °C、5% CO₂ 含有湿潤環境下で培養した。HEK293T と A431 細胞への遺伝子導入にはポリエチレンイミン "Max" (Polysciences) を、HeLa 細胞へは FuGENE HD Transfection Reagent (Roche) を使用した。
- (2) プラスミド: pCAGGS-VN-H-Ras WT、pCXN2-FLAG-p110 RBD-VC、pFX-SECFP、pFX-mito-SECFP、pFX-mito-EGFP は以前に報告したものをを用いた。pCMV-TagRFP-EEA1 は Addgene から購入し、pEGFP-C1-Rab5 は東京大学の坪井博士、mitoATeam1.03 の発現ベクターは東京大学の野地博士、pGBKT7 および pGADT7 は北海道大学の宮崎博士、pCX4puro-CRY2-cRaf は生物学研究所の青木博士から譲受した。その他の発現ベクターは常法に基づき作製した。すべての PCR 産物はシーケンス解析により塩基配列を確認した。
- (3) 酵母ツーハイブリッドアッセイ: Matchmaker™ Gold Yeast Two-Hybrid System (Clontech) を用いて行った。cDNA ライブラリ形質転換酵母として、Mate & Plate™ Library-Universal Human [Normalized] (Clontech) をを用いた。
- (4) イムノプロットティングと免疫沈降: 溶解バッファーを用いて細胞可溶化液を得た。遠心分離後の上清を 2 × 試料バッファーと混合し、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動に供した。免疫沈降では、上清を一次抗体とインキュベートした後、さらにプロテイン G-セファロースビーズ (GE ヘルスケア) とインキュベートした。ビーズに結合した免疫複合体を遠心分離により分離し、SDS 試料バッファーで溶出し、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動に供した。分離したタンパク質は PVDF 膜 (Millipore) に転写してイムノプロットで検出した。
- (5) RNA 干渉: ヒト VDAC1、VDAC2 および VDAC3 の mRNA に対する siRNA は、Ambion から、AllStars Negative Control siRNA は Qiagen から購入し、Lipofectamine RNAiMAX 試薬 (Thermo Fisher Scientific) を使用して細胞に導入した。
- (6) RNA 分離と定量 PCR 分析: 全 RNA を RNeasy Mini Kit (Qiagen) を使用して精製し、SuperScript VILO cDNA 合成キット (Thermo Fisher Scientific) を使用して cDNA を合成した。mRNA 発現量は定量 PCR を用いて解析した。
- (7) 蛍光顕微鏡観察および画像解析: 細胞の観察には、BioPoint MAC 6000 フィルター・シャッター制御装置 (Ludl Electronic Products)、自動 XY ステージ (中央精機)、UPlanSApo 60 × / 1.35 油浸対物レンズ、Rolera EM-C2 電子増倍冷却 CCD カメラ (QImaging)、SOLA Light Engine (Lumencor) および Chamlide インキュベーターシステム (Live Cell

Instruments) を備えた IX-83 顕微鏡 (オリンパス) を用いた。顕微鏡および周辺機器の制御には MetaMorph ソフトウェア (Molecular Devices) を使用した。生細胞観察にはコーゲンコーティングされたガラス底の皿 (直径 35 mm) に撒種した細胞を用いた。画像解析には取得画像から背景光を減算したものを使用した。

エンドソーム局在の定量化 : Ras-PI3K 複合体のエンドソーム局在の分析は、複合体を BiFC で、エンドソームを TagRFP-EEA1 で可視化し、両者の画像から MetaMorph ソフトウェアの「シルクハット」モジュールを使用して小胞構造が抽出し、同ソフトウェアの「共局在測定」機能を使用して両者の重なりを定量化した。

エンドサイトーシス : クラスリン非依存性およびクラスリン依存性エンドサイトーシスの評価には、それぞれ Alexa Fluor 標識デキストラン [10-kDa] (500 μ g / ml) およびトランスフェリン (500 μ g / ml) を用いた。37 °C で 30 分間インキュベートした後の取り込み量を、MetaMorph ソフトウェアで定量化し各画像の蛍光強度から求めた。免疫蛍光法 : 3% パラホルムアルデヒドで細胞を固定し、0.1% Triton X-100 で膜透過処理後、一次抗体と 4 °C で一晩、蛍光標識二次抗体と室温で 10 分間反応させた。

ミトコンドリア - エンドソーム相互作用 : siRNA を導入した A431 細胞に pFX-mito-EGFP さらに導入した。上皮増殖因子 (EGF, 100 ng / μ l) で 15 分間刺激した後固定し、免疫蛍光法で内因性 Rab5 を標識した。得られた画像から MetaMorph ソフトウェアの「シルクハット」モジュールでミトコンドリアとエンドソームの領域を抽出し、ミトコンドリアとエンドソームの共局在領域を「共局在測定」機能を使用して定量化した。

エンドソーム成熟アッセイ : HeLa 細胞を Alexa Fluor 488 (pH 非感受性色素) 標識デキストラン (500 μ g / ml) および AcidiFluorTM ORANGE (pH 感受性色素) 標識デキストラン (200 μ g / ml) と 15 分間インキュベートした。得られた画像から MetaMorph ソフトウェアを使用して細胞内の蛍光強度を定量化した。エンドソーム成熟は、pH 感受性色素の蛍光強度を pH 非感受性色素の蛍光強度で除して、それらの比率で評価した。

- (8) 光遺伝学によるミトコンドリア-エンドソーム相互作用の誘導 : A431 細胞に pFX-CRY2-iRFP-FYVE および pFX-TOM20-mCherry-CIB1 を導入した。観察開始後、ミトコンドリアとエンドソームの相互作用を誘導するため、5 秒間 488 nm の光を照射した。それらの画像を、ミトコンドリアとエンドソーム相互作用とエンドソーム成熟アッセイに供した。
- (9) 統計分析 : すべてのデータは平均 \pm 標準誤差で示した。少なくとも 3 つの独立した実験から、スチューデントの t 検定 (2 群間の比較) または一元配置分散分析 (ANOVA) とポストホック検定 (多群間の比較) により比較した。時系列データセットは、多変量分散分析 (MANOVA, 2 群間) またはボンフェローニ補正付きの MANOVA (多群間) で比較した。

4. 研究成果

- (1) VDAC2 は RAPEL と相互作用し Ras-PI3K 複合体のエンドソーム局在を調節する : Ras-PI3K 複合体が RAPEL を介して細胞膜からエンドソームに移行する分子機構を明らかにするため、PI3K-RBD を使用した酵母ツーハイブリッドアッセイにより RAPEL 結合因子を探索した。そのうち、哺乳動物細胞でも RAPEL との相互作用が免疫沈降アッセイで確認された VDAC2 について詳細に検討した。VDAC2 が Ras-PI3K 複合体の EGF 依存性エンドソーム局在に関与するかどうかを調べるため、siRNA を用いて VDAC をノックダウンしたところ、複合体と初期エンドソームの共局在が有意に抑制された。なお、イムノプロットングでタンパク質発現量が約 90% 減少したことを確認した。したがって、RAPEL 結合タンパク質の一つ VDAC2 が、Ras-PI3K 複合体のエンドソーム局在調節に直接関与していることが示された。
- (2) VDAC2 はクラスリン非依存性エンドサイトーシスの正の調節因子である : VDAC2 がエンドサイトーシスの調節に関与するかどうかを評価するため、VDAC2 ノックダウン細胞をクラスリン非依存性エンドサイトーシス経路を介して細胞に組み込まれる蛍光標識デキストランとインキュベートした (分子量 : 10 kDa)。予想通り VDAC2 ノックダウンでは、対照細胞と比較してデキストランの取り込みが減少した。逆に、VDAC2 の過剰発現では取り込みが亢進し、VDAC2 がクラスリン非依存性エンドサイトーシスを正に制御することが示された。一方、VDAC2 ノックダウンまたは過剰発現は、クラスリン依存性エンドサイトーシスに影響を与えなかった。VDAC ファミリーは他のアイソフォームの欠失を機能的に補償することが報告されているため、クラスリン非依存性エンドサイトーシスの調節における他のアイソフォームの関与の可能性を検討した。興味深いことに、すべての VDAC アイソフォームが RAPEL と相互作用するにもかかわらず、VDAC をすべてノックダウンした細胞のデキストラン取り込みは、VDAC2 単独ノックダウン細胞と同程度であった。したがって、VDAC2 がクラスリン非依存性エンドサイトーシスを特異的に制御することが示唆された。次に、EGF 下流での VDAC2 の役割を解析した。EGF 刺激によりデキストランの取り込みは増加したが、VDAC2 ノックダウン細胞ではこの増加は認められなかった。一方、非刺激時にはノックダウン細胞と対照細胞で取り込み量に差はなかった。よって、VDAC2 は EGF 依存性のクラスリン非依存性エンドサイトーシスの亢進

に關与することが結論付けられた。

- (3) VDAC2 は EGF 依存性ミトコンドリア-エンドソーム相互作用を仲介する：VDAC2 は RAPEL 結合タンパク質として同定され、Ras-PI3K シグナル伝達を介したエンドサイトーシスの調節に關与することが示された。それではなぜ、ミトコンドリアタンパク質 VDAC2 がエンドサイトーシス制御に關与するであろうか？この疑問に答えるため、我々はまず、VDAC2 と Ras-PI3K 複合体の細胞内局在を詳細に觀察した。興味深いことに、Ras-PI3K 複合体が存在するエンドソームの一部が、VDAC2 によって可視化されたミトコンドリアに EGF 刺激により近接することを見出した。初期エンドソームに移動した Ras-PI3K 複合体が数分間ミトコンドリアと接触しているように見えた。さらに、ミトコンドリア-エンドソーム間相互作用を定量化し、EGF の存在下または非存在下で比較したところ、対照細胞では EGF 刺激によって相互作用が促進されるが、VDAC2 ノックダウン細胞では促進が見られないことが明らかになった。これらの結果は、EGF 依存的な Ras-PI3K 複合体陽性エンドソームとミトコンドリアとの相互作用において、VDAC2 が重要な役割を果たすことを示唆する。
- (4) VDAC2 はエンドソーム成熟を促進する：興味深いことに、EEA1 の蛍光シグナルがミトコンドリア-エンドソーム相互作用中に徐々に減少することが、マルチカラー生細胞イメージングで見いだされた。したがって、VDAC2 はオルガネラ間の相互作用を通じて、クラスリン非依存性エンドサイトーシスに加え、エンドソーム成熟を促進することが示唆された。実際、VDAC 過剰発現はエンドソーム pH の低下を促進した。さらに、ミトコンドリアとエンドソームの相互作用に伴うエンドソームの酸性化は、EGF 刺激によって亢進し、それは VDAC2 ノックダウンによって抑制された。したがって、VDAC2 は、ミトコンドリアとエンドソームの相互作用を介して、エンドソームの成熟を促進することが示唆された。
- (5) ミトコンドリアとエンドソームの相互作用はエンドソームの成熟を促進する：最後に、ミトコンドリアとエンドソームの相互作用自体がエンドソームの成熟に必要などうかを評価した。そのために、青色光照明によってミトコンドリアとエンドソームの相互作用を誘発する光遺伝学システムを確立した。クリプトクローム 2 (CRY2) はシロイヌナズナの青色光受容体であり、その構造は 488 nm の光によって変化し、CIB1 と結合可能になる。エンドソームとミトコンドリアにそれぞれ局在する CRY2 と CIB1 を作製した。488 nm の光の照射後、エンドソームとミトコンドリアの共局在は確かに増加した。この条件下で、AcidiFluor™ ORANGE 標識デキストランを使用して評価したエンドソーム成熟は、非照射細胞よりも光照射細胞で有意に促進した。VDAC2 ノックダウン細胞では、このような光誘起によるエンドソームの成熟は觀察されず、VDAC2 がミトコンドリアとエンドソームの相互作用によるエンドソームの成熟に必要なことが示唆された。さらに、エンドソーム成熟に必要な VDAC2 の機能の決定を試みた。VDAC はもともと陰イオン輸送体として同定されたが、そのポアは陽イオンや代謝産物に対する透過性を持つことも最近報告されている。さらに、VDAC1 に関して、陰イオンまたは陽イオンに対して特定の透過性を有する変異体が報告されている。そこで、VDAC1 変異体に従って特定のイオンへのコンダクタンスが変化する VDAC2 変異体を構築し、それらの変異体がエンドソーム成熟を促進するかどうかを調べた。変異体を発現する細胞の後期エンドソームの pH は対照細胞のそれと同等だったが、野生型 VDAC2 発現により pH は低下した。これらの結果は、VDAC2 のイオン透過性がエンドソーム成熟に不可欠であることを示唆している。
- (6) 以上の一連の結果により、VDAC2 は RAPEL と結合してエンドソームとミトコンドリアの繫留因子と機能すること、そしてポアタンパク質として EGF 依存性のエンドソーム成熟を、ミトコンドリア-エンドソーム相互作用を介して促進することが見いだされた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 14件／うち国際共著 4件／うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Takeuchi Y, Narumi R, Akiyama R, Vitiello E, Shirai T, Tanimura N, Kuromiya K, Ishikawa S, Kajita M, Tada M, Haraoka Y, Akiyama Y, Ishitani T, Fujioka Y, Ohba Y, Yamada S, Hosokawa Y, Toyama Y, Matsui T, Fujita Y	4. 巻 30
2. 論文標題 Calcium Wave Promotes Cell Extrusion	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Current Biology	6. 最初と最後の頁 670-681.e6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cub.2019.11.089	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 Kashiwagi Sayaka, Fujioka Yoichiro, Kondo Takeshi, Satoh Aya O., Yoshida Aiko, Fujioka Mari, Sasajima Hitoshi, Amano Maho, Teshima Takanori, Ohba Yusuke	4. 巻 44
2. 論文標題 Localization of BCR-ABL to Stress Granules Contributes to Its Oncogenic Function	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cell Structure and Function	6. 最初と最後の頁 195-204
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1247/csf.19033	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 Kashiwagi Sayaka, Fujioka Yoichiro, Satoh Aya O., Yoshida Aiko, Fujioka Mari, Nepal Prabha, Tsuzuki Atsushi, Aoki Ozora, Paudel Sarad, Sasajima Hitoshi, Ohba Yusuke	4. 巻 44
2. 論文標題 Folding Latency of Fluorescent Proteins Affects the Mitochondrial Localization of Fusion Proteins	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cell Structure and Function	6. 最初と最後の頁 183-194
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1247/csf.19028	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 Maishi Nako, Kikuchi Hiroshi, Sato Masumi, Nagao-Kitamoto Hiroko, Annan Dorcas A., Baba Shogo, Hojo Takayuki, Yanagiya Misa, Ohba Yusuke, Ishii Genichiro, Masutomi Kenkichi, Shinohara Nobuo, Hida Yasuhiro, Hida Kyoko	4. 巻 20
2. 論文標題 Development of Immortalized Human Tumor Endothelial Cells from Renal Cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 4595-4595
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms20184595	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 Kondo T, Fujioka M, Fujisawa S, Sato K, Tsuda M, Miyagishima T, Mori A, Iwasaki H, Kakinoki Y, Yamamoto S, Haseyama Y, Ando S, Shindo M, Ota S, Kurosawa M, Ohba Y, Teshima T, The North Japan Hematology Study Group (NJHSG)	4. 巻 110
2. 論文標題 Clinical efficacy and safety of first-line nilotinib therapy and evaluation of the clinical utility of the FRET-based drug sensitivity test	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Hematology	6. 最初と最後の頁 482-489
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12185-019-02696-w	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 Yoichiro Fujioka, Shinya Nishide, Toyoyuki Ose, Tadaki Suzuki, Izumi Kato, Hideo Fukuhara, Mari Fujioka, Kosui Horiuchi, Aya O. Satoh, Prabha Nepal, Sayaka Kashiwagi, Jing Wang, Mika Horiguchi, Yuko Sato, Sarad Paudel, Asuka Nanbo, Tadaaki Miyazaki, Hideki Hasegawa, Katsumi Maenaka, Yusuke Ohba	4. 巻 23
2. 論文標題 A Sialylated Voltage-Dependent Ca ²⁺ -Channel Binds Hemagglutinin and Mediates Influenza A Virus Entry into Mammalian Cells	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cell Host & Microbe	6. 最初と最後の頁 809-818.e5
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chom.2018.04.015	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 A. Nanbo, M. Ohashi, H. Yoshiyama and Y. Ohba.	4. 巻 9
2. 論文標題 The role of transforming growth factor in cell-to-cell contact-mediated Epstein-Barr virus transmission.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Front Microbiol	6. 最初と最後の頁 984
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmicb.2018.00984	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 A. Nanbo, H. Katano, M. Kataoka, S. Hoshina, T. Sekizuka, M. Kuroda and Y. Ohba.	4. 巻 10
2. 論文標題 Infection of Epstein-Barr virus in type III latency modulates biogenesis of exosomes and the expression profile of exosomal miRNAs in the Burkitt lymphoma Mutu cell lines.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 237
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers10070237	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 A. Nanbo and Y. Ohba.	4. 巻 218
2. 論文標題 Budding of Ebola Virus Particles Requires the Rab11-Dependent Endocytic Recycling Pathway.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Infect Dis	6. 最初と最後の頁 S388-S396
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/infdis/jiy460	査読の有無 無
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 Yoichiro Fujioka, Aya O. Satoh, Kosui Horiuchi, Mari Fujioka, Kaori Tsutsumi, Junko Sasaki, Prabha Nepal, Sayaka Kashiwagi, Sarad Paudel, Shinya Nishide, Asuka Nanbo, Takehiko Sasaki, Yusuke Ohba	4. 巻 44
2. 論文標題 A peptide derived from phosphoinositide 3-kinase inhibits endocytosis and influenza virus infection.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cell Structure and Function	6. 最初と最後の頁 61-74
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1247/csf.19001	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 該当する

1. 著者名 Nanbo Asuka, Noda Takeshi, Ohba Yusuke	4. 巻 9
2. 論文標題 Epstein-Barr Virus Acquires Its Final Envelope on Intracellular Compartments With Golgi Markers	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Front Microbiol.	6. 最初と最後の頁 454
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmicb.2018.00454	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 Kitamura Shinya, Yanagi Teruki, Inamura-Takashima Yuka, Imafuku Keisuke, Hata Hiroo, Fujioka Yoichiro, Ohba Yusuke, Shimizu Hiroshi	4. 巻 90
2. 論文標題 Dermoscopic evaluation for skin grafts after surgery; neo-vascularization correlates with survival of skin grafts: A prospective study	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Dermatol Sci	6. 最初と最後の頁 213-216
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jdermsci.2018.01.014	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 Nanbo Asuka, Maruyama Junki, Imai Masaki, Ujie Michiko, Fujioka Yoichiro, Nishide Shinya, Takada Ayato, Ohba Yusuke, Kawaoka Yoshihiro	4. 巻 14
2. 論文標題 Ebola virus requires a host scramblase for externalization of phosphatidylserine on the surface of viral particles	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 PLoS Pathog	6. 最初と最後の頁 e1006848
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.ppat.1006848	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 Kon Shunsuke, (35名省略), Ohba Yusuke, (1名省略), Fujita Yasuyuki	4. 巻 19
2. 論文標題 Cell competition with normal epithelial cells promotes apical extrusion of transformed cells through metabolic changes	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Nat Cell Biol	6. 最初と最後の頁 530 ~ 541
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/ncb3509	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 Saitoh Sayaka, Maruyama Takeshi, Yako Yuta, Kajita Mihoko, Fujioka Yoichiro, Ohba Yusuke, Kasai Nobuhiro, Sugama Natsu, Kon Shunsuke, Ishikawa Susumu, Hayashi Takashi, Yamazaki Tomohiro, Tada Masazumi, Fujita Yasuyuki	4. 巻 114
2. 論文標題 Rab5-regulated endocytosis plays a crucial role in apical extrusion of transformed cells	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Proc Natl Acad Sci USA	6. 最初と最後の頁 E2327 ~ E2336
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1602349114	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28件(うち招待講演 4件/うち国際学会 4件)

1. 発表者名 柏木 彩花、藤岡 容一郎、佐藤 絢、吉田 藍子、藤岡 真理、Nepal Prabha、続木 惇、青木 大空、Paudel Sarad、笹島 仁、大場 雄介
2. 発表標題 蛍光タンパク質の成熟促進化はミトコンドリアマーカー本来の局在を阻害する
3. 学会等名 第97回日本生理学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 A. Yoshida A, N. Sakai, N. Takahashi, S. H. Yoshimura, Y. Ohba
2. 発表標題 Live-cell imaging and analysis of the plasma membrane dynamics during clathrin-mediated endocytosis by high-speed atomic force microscopy
3. 学会等名 ASCB EMBO 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 A. O. Satoh, Y. Fujioka, H. Sasajima, S. Paudel, A. Nanbo, Y. Ohba
2. 発表標題 Functional Analysis of Mitochondria-endosome Interaction in the Regulation of Endocytosis
3. 学会等名 ASCB EMBO 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 M. Amano, Y. Fujioka, A. O. Satoh, K. Horiuchi, A. Yoshida, H. Sasajima, C. Obuse, Y. Ohba
2. 発表標題 Irs4 Mediates Egf-dependent Upregulation of Endocytosis through the Recruitment of Ras-pi3k Complex to the Endosome.
3. 学会等名 ASCB EMBO 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤岡 容一郎、佐藤 絢、吉田 藍子、笹島 仁、Sarad Paudel、皆川 慶嘉、田端 和仁、野地 博行、大場 雄介
2. 発表標題 インフルエンザウイルス粒子の細胞取り込み機構の解析
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 天野 麻穂、藤岡 容一朗、佐藤 絢、堀内 浩水、吉田 藍子、笹島 仁、小布施 力史、大場 雄介
2. 発表標題 IRS4はRas PI3K複合体のエンドソーム局在化を介して依存性エンドサイトーシスを制御する
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 Aiko Yoshida、Nobuaki Sakai、Naoki Takahashi、Shige H. Yoshimura、Yusuke Ohba
2. 発表標題 Probing in vivo dynamics of plasma membrane during clathrin-mediated endocytosis
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 大場雄介
2. 発表標題 電位依存性Ca ²⁺ チャネルはシアル酸化依存的にA型インフルエンザヘマグルチニンと結合し宿主細胞へのウイルス粒子の取り込みを制御する
3. 学会等名 第92回日本生化学会学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉田藍子、大場雄介
2. 発表標題 クラスリン依存性エンドサイトーシスに伴う細胞膜動態のライブセル可視化解析
3. 学会等名 第92回日本生化学会学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大場雄介
2. 発表標題 細胞膜動態のcorrelative imaging
3. 学会等名 第57回日本生物物理学会年会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉田 藍子、酒井 信明、高橋 直希、吉村 成弘、大場 雄介
2. 発表標題 高速原子間力顕微鏡によるエンドサイトーシスに伴う細胞膜の形状変化の ライブセルイメージング
3. 学会等名 第71回日本細胞生物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐藤 絢、藤岡 容一郎、笹島 仁、南保 明日香、大場 雄介
2. 発表標題 ミトコンドリアポアタンパク質を介したミトコンドリア _ エンドソーム間 相互作用によるエンドサイトーシス制御機構
3. 学会等名 第71回日本細胞生物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 柏木 彩花、藤岡 容一郎、笹島 仁、大場 雄介
2. 発表標題 蛍光タンパク質の成熟促進化はオルガネラマーカ―本来の局在を阻害する
3. 学会等名 第71回日本細胞生物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大場雄介
2. 発表標題 Ras-PI3Kシグナルによるエンドサイトーシスの制御機構
3. 学会等名 第71回日本細胞生物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoichiro Fujioka, Aya O Satoh, Kosui Horiuchi, Mari Fujioka, Sarad Paudel, Asuka Nanbo, Yusuke Ohba
2. 発表標題 A PI3K-derived peptide inhibits clathrin-independent endocytosis and influenza virus infection
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 Aiko Yoshida, Nobuaki Sakai, Yoshitsugu Uekusa, Shige H Yoshimura, Yusuke Ohba
2. 発表標題 Involvement of actin dynamics in the endocytic process revealed by fast-scanning atomic force microscopy
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 Sayaka Kashiwagi, Yoichiro Fujioka, Kosui Horiuchi, Aya O Satoh, Prabha Nepal, Aiko Yoshida, Sarad Paudel, Asuka Nanbo, Yusuke Ohba
2. 発表標題 The role of an Na,K-ATPase in spatiotemporal regulation of Ras- PI3K signaling and endocytosis
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 Aya O Satoh, Yoichiro Fujioka, Kosui Horiuchi, Prabha Nepal, Sayaka Kashiwagi, Aiko Yoshida, Mari Fujioka, Sarad Paudel, Asuka Nanbo, Yusuke Ohba
2. 発表標題 A mitochondrial outer membrane protein is involved in the regulation of Ras-PI3K signaling-mediated endocytosis
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 Mari Fujioka, Yoichiro Fujioka, Aya O Satoh, Prabha Nepal, Sayaka Kashiwagi, Aiko Yoshida, Sarad Paudel, Asuka Nanbo, Yusuke Ohba
2. 発表標題 Development of FRET-based biosensors for measuring tyrosine kinase activity in living cells
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 Sarad Paudel, Yoichiro Fujioka, Aya O. Satoh, Mari Fujioka, Kosui Horiuchi, Prabha Nepal, Sayaka Kashiwagi, Aiko Yoshida, Asuka Nanbo, Yusuke Ohba
2. 発表標題 The Role of tubulin in the regulation of endocytosis mediated by Ras-PI3K signaling
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 Prabha Nepal, Yoichiro Fujioka, Aya O. Satoh, Kosui Horiuchi, Sarad Paudel, Sayaka Kashiwagi, Aiko Yoshida, Mari Fujioka, Asuka Nanbo, Yusuke Ohba
2. 発表標題 Role of inner mitochondrial membrane proteins in the regulation of endocytosis mediated by Ras-PI3K signaling
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 Yusuke Ohba
2. 発表標題 Fluorescence Imaging of membrane dynamics and intracellular signaling
3. 学会等名 The 9th Federation of Asian and Oceanian Physiological Societies Congress (FAOPS2019) in conjunction with the 96th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大場雄介
2. 発表標題 細胞内シグナル伝達の可視化と光による操作
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 藤岡容一朗、佐藤絢、堀内浩水、藤岡真理、パウデル サラド、西出真也、南保明日香、大場雄介
2. 発表標題 PI3K 由来ペプチドによるエンドサイトーシスとインフルエンザウイルス感染の抑制
3. 学会等名 第40回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 吉田藍子、酒井信明、植草良嗣、糸田昌宏、吉村成弘、大場雄介
2. 発表標題 高速原子間力顕微鏡を用いた細胞表面膜構造動態のライブセルイメージング
3. 学会等名 第40回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 藤岡容一朗、西出真也、尾瀬農之、加藤いづみ、福原秀雄、藤岡真理、堀内浩水、佐藤絢、Prabha Nepal、柏木彩花、Jing Wang、堀口美香、Sarad Paudel、南保明日香、宮崎忠昭、前仲勝実、大場雄介
2. 発表標題 インフルエンザウイルス細胞侵入において鍵となる宿主タンパク質の同定
3. 学会等名 第69回日本細胞生物学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 堀内浩水、藤岡容一朗、佐藤絢、Prabha Nepal、Jing Wang、堀口美香、Sarad Paudel、西出真也、南保明日香、小布施力史、大場雄介
2. 発表標題 Ras-PI3K複合体によるエンドサイトーシスの制御因子の探索と機能解析
3. 学会等名 第69回日本細胞生物学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 佐藤絢、藤岡容一朗、堀内浩水、藤岡真理、パウデル サラド、西出真也、南保明日香、大場雄介
2. 発表標題 PI3K 由来ペプチドによるインフルエンザウイルス感染の抑制
3. 学会等名 第69回日本細胞生物学会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Mari Fujioka、Yumi Asano、Shigeyuki Nakada、Yusuke Ohba	4. 発行年 2017年
2. 出版社 Humana Press, New York, NY	5. 総ページ数 555
3. 書名 Methods in Molecular Biology, SH2 domain	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
連携研究者	藤岡 容一郎 (Fujioka Yoichiro) (70597492)	北海道大学・大学院医学研究院・講師 (10101)	
連携研究者	佐藤 絢 (Sato Aya) (90854662)	北海道大学・大学院医学研究院・博士研究員 (10101)	

7. 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

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関