

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 9 月 26 日現在

機関番号：32660

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25440054

研究課題名(和文) 活性型GPCRマーカを用いたGPCRシグナルの制御機構の解析

研究課題名(英文) Global analysis of G-protein-coupled receptor signaling by fluorescent GPCR ligand

研究代表者

十島 二郎 (Toshima, Jiro)

東京理科大学・基礎工学部・准教授

研究者番号：00333831

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：Gタンパク質共役型受容体(GPCR)は創薬の主要な標的分子である。本研究において、GPCRシグナルのエンドサイトーシスによる下方制御に異常がみられる変異体を探索し、195種類の関連遺伝子の同定に成功した。さらに、これらの遺伝子から酵母Rab5について解析を進め、Rab5がGPCRの下方制御に重要であること、またAP3経路を介した新しいGPCRのエンドサイトーシス経路が存在することを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：G protein-coupled receptors (GPCRs) are heptahelical membrane proteins that comprise one of the largest families of cell surface signaling receptors in the human genome. GPCRs are the targets of ~30% of the drugs currently used for the treatment of a wide range of human diseases. Thus, elucidating the mechanism of regulation of GPCR signaling is essential for the development of more effective and safer therapeutic agents. Endocytic internalization of G protein-coupled receptors (GPCRs) plays a critical role in down-regulation of GPCR signaling. In this study, we screened for yeast single-gene deletion mutants exhibiting defects in GPCR endocytosis. By using fluorescent endocytic cargo, we identified 195 mutants that exhibited delay in endocytic transport of GPCR. Among these genes, we focused on yeast Rab5, Vps21p. We found that yeast Rab5 mutant shows significant delay of GPCR transport to the vacuole. We also found a novel endocytic pathway mediated by the AP-3 complex.

研究分野：細胞生物学

キーワード：GPCR エンドサイトーシス 小胞輸送 Rab5 小胞輸送

### 1. 研究開始当初の背景

Gタンパク質共役型受容体 (GPCR) は7回膜貫通型の細胞膜タンパク質であり、ヒトゲノムにおいて約900種類からなる大きなファミリーを形成している。これらのGPCRは血圧の調節、味覚、嗅覚など様々な生体現象に関わるほか、細胞の増殖、遊走などにも必要とされている。重要なことに、GPCRファミリーの中で約300種程度は生理活性物質をリガンドとすると考えられており、これらのGPCRは創薬の標的分子となっている。現在まで開発された医薬品の中で40%程度はGPCRに作用する薬剤である。また、幾つかのGPCRはがん細胞に過剰発現し、細胞の癌化にも関わっていることが報告されている。これらのことから、GPCRシグナルの活性制御機構を明らかにすることは、基礎生命科学の分野のみならず、臨床応用の面からも重要な研究課題である。近年、GPCRシグナルの下方制御にエンドサイトーシスが重要な働きをしていることが明らかにされている。

### 2. 研究の目的

GPCRのエンドサイトーシスによる活性シグナルの制御機構を明らかにすることを目的とする。GPCRはリガンドの結合により活性化し、シグナルを伝えると、クラスリン小胞へ取込まれ、エンドサイトーシスされ、エンドソームにおいて、細胞膜へのリサイクリングもしくは、リソソームで分解へと選別される。GPCRのエンドサイトーシスの取り込みは、GPCRシグナルの不活性化のための主たる制御機構であるが、「活性化したGPCRのクラスリン小胞への取込み機構、およびエンドサイトーシス後のリサイクリングもしくは分解機構」については不明な点が多く残されている。本研究では、活性化GPCRの選択的エンドサイトーシス機構、活性化GPCRのリソソームへの輸送機構(分解機構)、およびエンドサイトーシスされたGPCRの細胞膜へのリサイクリング機構を調べ、GPCRシグナルのエンドサイトーシスによる調節機構を解明し、GPCRシグナルの未知の活性調節機構を明らかにする。

### 3. 研究の方法

#### (1) GPCRのエンドサイトーシスによる輸送に異常のある変異体の同定

私達の研究室において新規に開発した出芽酵母のエンドサイトーシスマーカー①を用いて、GPCRの細胞膜-リソソーム間の輸送に異常がみられる変異体をスクリーニングする。出芽酵母遺伝子欠損変異体ライブラリー5154種に対して、エンドサイトーシス経路のマーカーである蛍光 $\alpha$ -factorを用いたスクリーニングを行った。蛍光 $\alpha$ -factorは受容体依存的なエンドサイトーシスにより細胞内へ取り込まれた後、約5分で初期エンドソーム、約10~15分で後期エンドソームから液胞まで経時的に局在を変化する。蛍光

$\alpha$ -factorを添加後、野生型細胞では15分で液胞まで輸送されるのに対し、エンドサイトーシス経路に異常のある変異体では蛍光 $\alpha$ -factorが正しく液胞まで輸送されず、細胞膜やエンドソームに残留する。このことを利用して本スクリーニングでは、蛍光 $\alpha$ -factorを細胞に添加後、15分経過時点で液胞に到達しない変異体を探索した。本スクリーニングでは、まず全変異体5154種に対して効率的な1stスクリーニングを行い、そこで同定された遺伝子に対してより高精度な2ndスクリーニングを行った。2ndスクリーニングでは輸送異常の重篤度を判断するために、蛍光 $\alpha$ -factor添加後15分経過時に加え30分経過時の局在も観察した。

#### (2) スクリーニングにより同定したタンパク質の機能解析

スクリーニングにより同定したタンパク質については蛍光 $\alpha$ -factorの輸送がどこで遅れているかを指標にして、変異体の分類分けを行った。また、同定した変異体の責任遺伝子について、これまでGPCR輸送における役割がよく分かっていないタンパク質をコードするものについて、さらに詳細な解析を行った。特に、輸送異常が生じている部位の特定、クラスリン被覆タンパク質形成への影響の解析、クラスリン小胞の細胞内への取込み効率について調べた。

### 4. 研究成果

#### (1) スクリーニング結果

酵母遺伝子欠損変異体ライブラリー5145種のスクリーニングを完了した。1stスクリーニングの結果、343種類の輸送異常変異体の単離に成功した。さらに、これらの変異体に対してより精度の高い2ndスクリーニングを行い、最終的に195種類の変異体の同定に成功した。これらの変異体を機能別に分類した結果、既知のエンドサイトーシス関連遺伝子(図1、Endocytosis)の変異体が44種、細胞内輸送関連遺伝子(図1、Trafficking)が24種、遺伝子発現関連遺伝子(図1、Gene expression)が27種、その他新規遺伝子(図1、Unknown)が32種などであった。

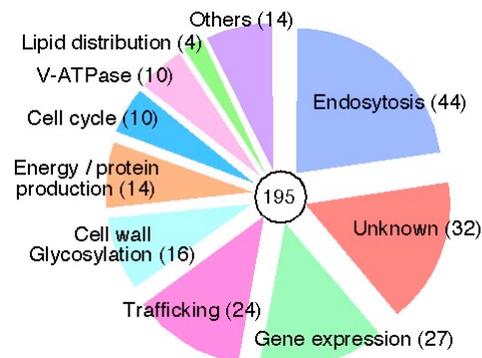


図1. スクリーニングで単離した変異体の機能による分類

さらに、これらの変異体について、データベース解析により、細胞内小胞輸送に関わる可能性のある遺伝子を 99 種類抽出した。これらの変異体について、蛍光 $\alpha$ -factor が蓄積している部位をもとに分類した結果、細胞膜に蓄積している変異体 (クラス A)、輸送小胞に蓄積している変異体 (クラス B)、液胞前領域に蓄積している変異体 (クラス C) に分類した (図 2)。これら 99 種類の変異体については、さらに細胞膜への $\alpha$ -factor 受容体のリサイクリングに障害のある変異体を放射標識した $\alpha$ -factor の結合量を指標にして、同定することに成功した。この結果、 $\alpha$ -factor 受容体のリサイクリングに関わる因子として、アクチン骨格の制御に関わるもの、PI のリン酸化代謝に関わるもの、エンドソームからゴルジへの逆行性輸送に関わるものを複数同定した。

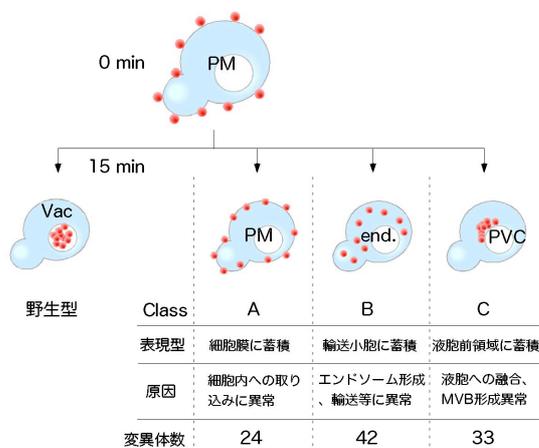


図 2. 単離した変異体の表現型による分類

(2) 酵母 Rab5 (Vps21p) の GPCR 輸送における役割

蛍光 $\alpha$ -factor を用いて、私達は Vps21p がエンドサイトーシス経路において機能する過程を調べた。野生型細胞において、蛍光 $\alpha$ -factor は細胞内に取込まれて 5 分後に初期エンドソーム、10 分後に後期エンドソームから液胞に輸送される (図 3 上)。これに対して、Rab5 欠損 (*vps21 $\Delta$  ypt52 $\Delta$* ) 変異体では取り込み後 10 分において、ほとんどがエンドソームに局在する (図 3 下)。蛍光 $\alpha$ -factor により標識されるエンドソーム数の時間経過に伴う変化について調べたところ、野生型細胞では 5 分後にエンドソーム数が最高になり、その後 20 分後にかけて次第に減少する (図 3)。これは、細胞内に取込まれた $\alpha$ -factor はまず多数の初期エンドソームに輸送された後、同型融合を経て後期エンドソームへと遷移していくことを示している。これに対して、Rab5 変異体においては取り込み後 10 分においてまで、エンドソーム数は増加し、その後エンドソーム数に有意な減少は認められない (図 3)。この結果は、Rab5 非存在下

では初期エンドソーム間の融合が進行しないため、後期エンドソームおよび液胞への輸送が阻害されることを示しており、Rab5 による初期エンドソームの同型融合が後期エンドソームへの進行に必要なことを示唆している。さらに興味深いことに、蛍光 $\alpha$ -factor の液胞への輸送は、Rab5 欠損変異体において、遅延は見られるものの完全には抑制されないことが分かった (図 3 下、40 min)。この結果は、エンドサイトーシスによる蛍光 $\alpha$ -factor の細胞膜から液胞への輸送には、Rab5 依存的な経路に加えて、Rab5 非依存的な経路も存在する可能性があることを示唆している②③。

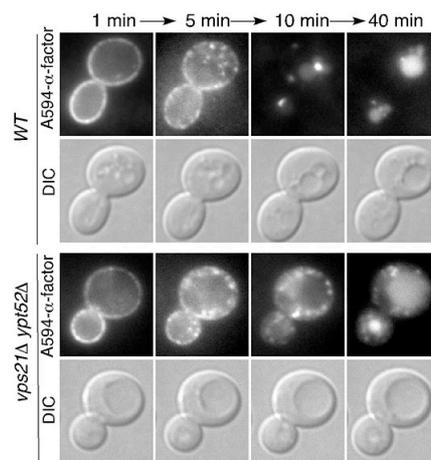


図 3. 酵母野生型細胞、および Rab5 欠損変異体における蛍光 $\alpha$ -factor の輸送

(3) VPS 経路を介したエンドサイトーシスの解析

生合成経路の中の VPS 経路は、新しく合成されたタンパク質をトランスゴルジから後期/多胞体エンドソームを経て、リソソームへと輸送する経路である。私達はこれら 2 経路間の小胞融合に Rab5 タンパク質が関わっているかを調べるために、Rab5 非存在下でのこれらの経路のイメージング解析を行った。エンドサイトーシス経路を蛍光 $\alpha$ -factor で、VPS 経路を液胞 ATP アーゼのサブユニットの一つである Vph1p の GFP 融合タンパク質を用いて標識した結果、野生型細胞では、これらのマーカーはリソソーム/液胞に局在を示すが (図 4A 左)、Rab5 欠損変異体においては、どちらのマーカーも液胞への局在は抑制され、エンドソーム様の局在を示すことが分かった (図 4A 右)。さらに、予想外なことに 70% 以上の蛍光 $\alpha$ -factor が V-ATPase と同じ小胞に局在することが明らかになった (図 4A 右) (8)。この結果は、Rab5 GTPase が VPS 経路とエンドサイトーシス経路の融合には必要ではないことを示すと同時に、これら 2 経路の交叉が初期から後期エンドソームへの遷移以前に起こることを示している。さらに、これらのマーカーが共局在するエンドソーム

と後期エンドソームのマーカーとの局在を比較したところ、Rab5 を欠損した細胞では蛍光 $\alpha$ -factor、Vph1-GFP とともに後期エンドソームへの局在は見られなかった。これらのことは、エンドサイトーシス経路と VPS 経路の交叉は Rab5 非依存的に初期エンドソームで起こることを示唆している②③。

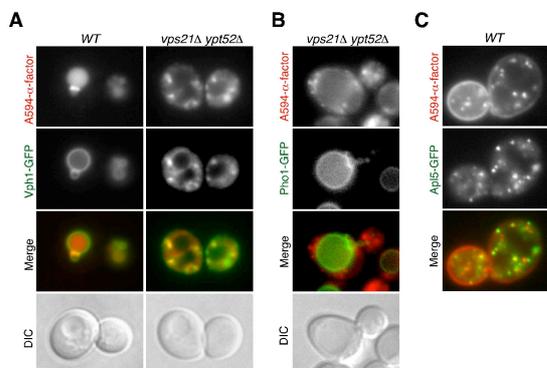


図4 Rab5 非依存的なエンドサイトーシス経路と生合成経路の交叉

#### (4) AP-3 経路を介したエンドサイトーシス経路

トランスゴルジから液胞への生合成経路には、前述の VPS 経路に加えて、トランスゴルジから直接リソソームへと輸送する AP-3 経路が存在する。このため、Rab5 非依存的な蛍光 $\alpha$ -factor のリソソーム/液胞への輸送が AP-3 経路を介している可能性について検討した。AP-3 経路特異的に輸送されることが知られている液胞アルカリフォスファターゼ Pho8p に GFP を付加し、Rab5 欠損変異体における液胞への輸送を調べた。この結果、Pho8-GFP は正常に液胞への輸送された (図 4B)。このことより、AP-3 経路の輸送は Rab5 を必要としないことを示しており、Rab5 欠損変異体における $\alpha$ -factor の液胞への輸送が AP-3 経路を介している可能性が考えられた。このため、Rab5 遺伝子欠損細胞において、AP-3 経路もさらに欠損させたところ、蛍光 $\alpha$ -factor の液胞への輸送に著しい抑制が見られた。さらに、野生型細胞における、蛍光 $\alpha$ -factor の Apl5-GFP で標識された AP-3 小胞への局在を調べたところ、蛍光 $\alpha$ -factor は AP-3 小胞に一過的に局在することが分かった (図 4C)。これらの結果は Rab5 遺伝子欠損細胞において、蛍光 $\alpha$ -factor は AP-3 経路を経て、リソソーム/液胞へと輸送されることを示唆している②③。

#### <引用文献>

- ① Toshima JY et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103: 5793-5798, (2006).
- ② Toshima JY et al., Nature Comm., 5: 3498/ ncomms4498, (2014).
- ③ Toshima JY, Toshima J., Seikagaku, 86: 788-792, (2014).

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 9 件)

1. Junko Y. Toshima, Eri Furuya, Chisa Kanno, Yuta Sakamoto, Masashi Ebihara, Makoto Nagano, Daria Elisabeth Siekhaus, and Jiro Toshima\*: Yeast Eps15-like endocytic protein Pan1p regulates the interaction between endocytic vesicles, endosomes and the actin cytoskeleton. eLife, 5: 10.7554 /eLife.10276, (2016).
2. Takahiro Hamoya, Gen Fujii, Shingo Miyamoto, Mami Takahashi, Yukari Totsuka, Keiji Wakabayashi, Jiro Toshima, Michihiro Mutoh: Effects of NSAIDs on the risk factors of colorectal cancer. Genes and Environment, 38: 10.1186/s41021-016-0033-0, (2016).
3. Junko Y. Toshima, Chika Horikomi, Asuka Okada, Makiko Nagashima, Makoto Nagano, Atsushi Masuda, Wataru Yamamoto, Daria Elisabeth Siekhaus and Jiro Toshima\*: Srv2/CAP is required for polarized actin cable assembly and patch internalization during clathrin-mediated endocytosis. J. Cell Sci., 129: 367-379, (2016).
4. Daiki Kawada, Hiromu Kobayashi, Tsuyoshi Tomita, Eisuke Nakata, Makoto Nagano, Daria Elisabeth Siekhaus, Junko Y. Toshima, and Jiro Toshima\*: The yeast Arf-GAP Glo3p is required for the endocytic recycling of cell surface proteins. Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Res., 1853: 144-156, (2015).
5. Makoto Nagano, Junko Y. Toshima, and Jiro Toshima\*: Rab GTPases networks in membrane traffic in Saccharomyces cerevisiae. Yakugaku zasshi, 135: 483-492, (2015).
6. Junko Y. Toshima, Show Nishinoaki, Yoshifumi Sato, Wataru Yamamoto, Daiki Furukawa, Daria Elisabeth Siekhaus, Akira Sawaguchi, and Jiro Toshima\*: Bifurcation of the endocytic pathway into Rab5 dependent and independent transport to the vacuole. Nature Comm., 5: 3498/ncomms4498, (2014).
7. Sonoko Kawamura, Makoto Nagano, Junko Y. Toshima, and Jiro Toshima\*: Analysis of subcellular localization and function of the yeast Rab6 homologue, Ypt6p, using a novel amino-terminal tagging strategy. Biochem. Biophys. Res. Commun., 450: 519-525, (2014).
8. Junko Y. Toshima, Jiro Toshima\*: Points of convergence of the endocytic pathway and biosynthetic pathway. Seikagaku, 86: 788-792, (2014).
9. Kazuma Ueno, Mayu Saito, Makiko Nagashima, Ai Kojima, Daisuke Higashino, Show Nishinoaki, Junko Y. Toshima, and Jiro Toshima\*: V-ATPase-dependent luminal acidification is required for endocytic recycling of a yeast cell wall stress sensor, Wsc1p. Biochem. Biophys. Res. Commun, 443: 549-555, (2014).

[学会発表] (計 58 件)

1. 十島二郎、長野真、十島純子：出芽酵母における Rab ファミリータンパク質によるエンドサイトーシス経路の制御機構、第 67 回日本細胞生物学会シンポジウム「進撃のメンブレントラフィック」2015 年 6 月 30 日、東京
2. 十島二郎、十島純子：出芽酵母におけるエンドサイトーシス経路のイメージング解析、第 87 回日本生化学会大会シンポジウム「メンブレントラフィック：基礎と疾患の理解へ向けて」2014 年 10 月 13 日、京都
3. 十島二郎：出芽酵母におけるエンドサイトーシス経路のイメージング解析、第 185 回酵母細胞研究会、2013 年 7 月 12 日、東京
4. Jiro Toshima、Eri Furuya、Chisa Kanno、Makoto Nagano、Junko Y. Toshima：Pan1p regulates the interaction between endocytic vesicles、endosomes and the actin cytoskeleton. The ASCB (アメリカ細胞生物学会)、Dec. 15th 2015、San Diego (USA)
5. 長野真、河田大樹、川村苑子、十島純子、十島二郎：分泌経路上の新規な Rab-GAP カスケードとそのエンドサイトーシス輸送における役割、第 88 回日本生化学会/第 38 回日本分子生物学会年会合同大会、2015 年 12 月 1 日、神戸
6. 阿部通子、斎藤麻由、塩川舟華、十島純子、十島二郎：ヒト V-ATPase サブユニットによる酵母 *vma* 変異体の機能的相補性の解析、第 88 回日本生化学会/第 38 回日本分子生物学会年会合同大会、2015 年 12 月 1 日、神戸
7. 益田淳史、古屋英里、堀込知佳、十島純子、十島二郎：エンドサイトーシス経路におけるアクチン依存的なエンドソーム運動の解析、第 88 回日本生化学会/第 38 回日本分子生物学会年会合同大会、2015 年 12 月 1 日、神戸
8. 佐藤匠、長野真、十島純子、十島二郎：細胞膜受容体のエンドサイトーシス-リサイクリング機構の解析、第 88 回日本生化学会/第 38 回日本分子生物学会年会合同大会、2015 年 12 月 1 日、神戸
9. 山本航、十島純子、十島二郎：クラスリン仲介型エンドサイトーシスにおけるアダプタータンパク質集積での PI4 キナーゼ Stt4p の必要性、第 88 回日本生化学会/第 38 回日本分子生物学会年会合同大会、2015 年 12 月 1 日、神戸
10. 秋庭涼、藤村翔吾、境未来、十島純子、十島二郎：出芽酵母を用いたヒト GPCR のリガンド応答性エンドサイトーシスの解析、第 88 回日本生化学会/第 38 回日本分子生物学会年会合同大会、2015 年 12 月 1 日、神戸
11. 小林宣、河田大樹、長野真、十島純子、十島二郎：リサイクリング経路における Arf GTPase 活性化因子 Glo3p の BoCCS および GAP ドメインの異なる役割、第 88 回日本生化学会/第 38 回日本分子生物学会年会合同大会、2015 年 12 月 1 日、神戸
12. 小澤彩夏 久保田千尋、岡田明日香、十島純子、十島二郎：出芽酵母単量体 GTPase Rho4p のエンドサイトーシス-リサイクリング経路における役割、第 88 回日本生化学会/第 38 回日本分子生物学会年会合同大会、2015 年 12 月 1 日、神戸
13. 福田志帆、小林宣、仲田瑛亮、富田剛史、十島純子、十島二郎：クラスリン仲介型エンドサイトーシスにおけるリン脂質フリッパーゼの必要性、第 88 回日本生化学会/第 38 回日本分子生物学会年会合同大会、2015 年 12 月 1 日、神戸
14. 堀込知佳、岡田明日香、益田淳史、十島純子、十島二郎：アクチン重合制御因子 Srv2/CAP とコフィリンによるクラスリン仲介型エンドサイトーシスの協調的制御機構、第 88 回日本生化学会/第 38 回日本分子生物学会年会合同大会、2015 年 12 月 1 日、神戸
15. 瀬戸貴成、十島純子、十島二郎：エンドサイトーシス経路における後期エンドソーム-リソソーム間輸送を制御する新規遺伝子の同定、第 88 回日本生化学会/第 38 回日本分子生物学会年会合同大会、2015 年 12 月 1 日、神戸
16. 連川泰平、柏熊竜太郎、十島純子、十島二郎：エンドサイトーシス-リサイクリング経路におけるホスファチジルセリンの局在と必要性、第 88 回日本生化学会/第 38 回日本分子生物学会年会合同大会、2015 年 12 月 1 日、神戸
17. 山本航、十島純子、十島二郎：クラスリン仲介型エンドサイトーシスにおけるホスホイノシチド (PIs) および PI4 キナーゼ Stt4p のイメージング解析、第 24 回日本バイオイメーキング学会、2015 年 9 月 27 日、東京
18. 佐藤匠、寒竹晃司、十島純子、十島二郎：細胞膜受容体のエンドサイトーシス-リサイクリング機構のバイオイメーキング解析、第 24 回日本バイオイメーキング学会、2015 年 9 月 27 日、東京
19. 阿部通子、塩川舟華、斎藤麻由、十島純子、十島二郎：内在性 V-ATPase プロモーターを用いた出芽酵母へのヒト V-ATPase の発現と機能性のイメージング解析、第 24 回日本バイオイメーキング学会、2015 年 9 月 27 日、東京
20. 益田淳史、古屋英里、堀込知佳、十島純子、十島二郎：エンドサイトーシス経路におけるアクチン依存的なエンドソーム運動のバイオイメーキング解析、第 24 回日本バイオイメーキング学会、2015 年 9 月 27 日、東京
21. 秋庭涼、藤村翔吾、境未来、十島純子、十島二郎：出芽酵母を用いたヒトケモカイン受容体 CCR2B のリガンド応答性エンドサイトーシスの解析、第 24 回日本バイオイメーキング学会、2015 年 9 月 27 日、東京
22. 小林宣、河田大樹、長野真、十島純子、十島二郎：細胞膜タンパク質リサイクリングにおける Arf GTPase 活性化因子 Glo3p のイメージング解析、第 24 回日本バイオイメーキング学会、2015 年 9 月 27 日、東京
23. 小澤彩夏 久保田千尋、岡田明日香、十島純子、十島二郎：出芽酵母 Rho GTPase ファミリータンパク質の局在と変異体のアクチン骨格およびエンドサイトーシスのバイオイメーキング解析、第 24 回日本バイオイメーキング学会、2015 年 9 月 27 日、東京
24. 瀬戸貴成、仲田瑛亮、富田剛史、十島純子、十島二郎：FYVE ドメインタンパク質 Pib2p のバイオイメーキング解析、第 24 回日本バイオイメーキング学会、2015 年 9 月 27 日、東京
25. 福田志帆、小林宣、仲田瑛亮、富田剛史、十島純子、十島二郎：リン脂質フリッパーゼのエンドサイトーシス経路におけるバイオイメーキング解析、第 24 回日本バイオイメーキング学会、2015 年 9 月 27 日、東京
26. 十島純子、古屋英里、海老原将、長野真、十島二郎：出芽酵母におけるアクチン骨格を介したクラスリン小胞からエンドソームへの輸送、第 67 回日本細胞生物学会、2015 年 6 月 30 日、東京
27. 長野真、十島純子、十島二郎：Golgi 局在性 scRab11 によるエンド-リソソーム輸送の活性化機構からエンドソームへの輸送、第 67 回日本細胞生物学会、2015 年 6 月 30 日、東京
28. 堀込知佳、岡田明日香、長野真、十島純子、十島二郎：出芽酵母 Srv2/CAP によるクラスリン仲介型エンドサイトーシスにおけるアクチン形成の制御、第 67 回日本細胞生物学会、2015 年 6 月 30 日、東京
29. 福田志帆、小林宣、仲田瑛亮、富田剛史、十島純子、十島二郎：リン脂質フリッパーゼ調節因子 Cdc50p のエンドサイトーシス-リサイクリング経路における役割、第 67 回日本細胞生物学会、2015 年 6 月 30 日、東京
30. 小林宣、河田大樹、長野真、十島純子、十島二郎：出芽酵母 Arf GTPase 活性化因子 Glo3p による細胞膜タンパク質輸送の制御、第 67 回日本細胞生物学会、2015 年 6 月 30 日、東京
31. 佐藤匠、寒竹晃司、十島純子、十島二郎：出芽

酵母を用いた細胞膜受容体のエンドサイトーシス-リサイクリング機構の解析. 第 67 回日本細胞生物学会、2015 年 6 月 30 日、東京

32. 山本航、十島純子、十島二郎: 出芽酵母クラスリン仲介型エンドサイトーシスにおけるイノシトールリン脂質の役割. 第 67 回日本細胞生物学会、2015 年 6 月 30 日、東京 (口)

33. 秋庭涼、藤村翔吾、境未来、十島純子、十島二郎: 出芽酵母を用いたヒトケモカイン受容体 CCR2B のリガンド応答性エンドサイトーシスの解析. 第 67 回日本細胞生物学会、2015 年 6 月 30 日、東京

34. 小澤彩夏 久保田千尋、岡田明日香、十島純子、十島二郎: クラスリン仲介型エンドサイトーシスにおける低分子量 GTPase Rho4p の役割. 第 67 回日本細胞生物学会、2015 年 7 月 1 日、東京

35. 山本航、十島純子、十島二郎: Role for yeast Phosphatidylinositol 4-kinase Stt4p in endocytosis. 第 37 回日本分子生物学会、2014 年 11 月 27 日、横浜

36. 小林宣、河田大樹、仲田瑛亮、富田剛史、長野真、十島純子、十島二郎: Requirement of Arf-GAP Glo3p in endocytic recycling of cell surface proteins. 第 37 回日本分子生物学会、2014 年 11 月 27 日、横浜

37. 塩川舟華、斎藤麻由、十島純子、十島二郎: Functional complementation of yeast V-ATPase subunit mutants by human homologue genes. 第 37 回日本分子生物学会、2014 年 11 月 27 日、横浜

38. 瀬戸貴成、仲田瑛亮、富田剛史、十島純子、十島二郎: Localization and role of FYVE domain protein, Pib2p, in the intracellular trafficking pathway. 第 37 回日本分子生物学会、2014 年 11 月 27 日、横浜

39. 連川泰平、柏熊竜太郎、富田剛史、十島純子、十島二郎: Requirement of Phosphatidylserine Synthase Cho1p in Recycling of Membrane Protein. 第 37 回日本分子生物学会、2014 年 11 月 27 日、横浜

40. 藤村翔吾、添田慶太郎、十島純子、十島二郎: Analysis of the down regulation mechanisms of the human CCR2B chemokine receptor in the budding yeast. 第 37 回日本分子生物学会、2014 年 11 月 27 日、横浜

41. 堀込知佳、岡田明日香、十島純子、十島二郎: Functional analysis of actin binding domain of Srv2p in actin cable assembly. 第 37 回日本分子生物学会、2014 年 11 月 27 日、横浜

42. 長野真、十島純子、十島二郎: Molecular mechanisms regulating the intracellular localization of Rab GTPase Vps21p in *Saccharomyces cerevisiae*. 第 37 回日本分子生物学会、2014 年 11 月 27 日、横浜

43. 十島純子、古屋英里、海老原将、長野真、十島二郎: Actin dependent transport from clathrin coated vesicle to early endosome in budding yeast. 第 37 回日本分子生物学会、2014 年 11 月 27 日、横浜

44. 久保田千尋、岡田明日香、長島万希子、十島純子、十島二郎: 出芽酵母における Rho GTPase ファミリータンパク質によるアクチンケーブルの制御. 第 87 回日本生化学会大会、2014 年 10 月 18 日、京都

45. 寒竹 晃司、富田剛史、仲田瑛亮、十島純子、十島二郎: 出芽酵母を用いた G タンパク質共役型受容体 Ste2p の細胞内リサイクリング機構の解析. 第 87 回日本生化学会大会、2014 年 10 月 18 日、京都

46. 山本航、十島純子、十島二郎: PI4 キナーゼ Stt4P のエンドサイトーシスにおける役割. 第 87 回日本生化学会大会、2014 年 10 月 18 日、京都

47. 小林宣、河田大樹、仲田瑛亮、富田剛史、長野真、十島純子、十島二郎: 出芽酵母 Arf GAP Glo3p による細胞膜タンパク質のリサイクリングの制御. 第 87 回日本生化学会大会、2014 年 10 月 18 日、京都

48. 塩川舟華、斎藤麻由、十島純子、十島二郎: 液胞型 ATPアーゼ (V-ATPase) の出芽酵母とヒト遺伝子間の相補性の解析. 第 87 回日本生化学会大会、2014 年 10 月 16 日、京都

49. 瀬戸貴成、仲田瑛亮、富田剛史、十島純子、十島二郎: FYVE ドメインタンパク質 Pib2p の細胞内局在と機能の解析. 第 87 回日本生化学会大会、2014 年 10 月 16 日、京都

50. 連川泰平、柏熊竜太郎、富田剛史、十島純子、十島二郎: ホスファチジルセリン合成酵素 Cho1p の細胞膜タンパク質リサイクリングにおける必要性. 第 87 回日本生化学会大会、2014 年 10 月 16 日、京都

51. 堀込知佳、岡田明日香、十島純子、十島二郎: アクチンケーブル形成における Srv2p のアクチン結合ドメインの機能解析. 第 87 回日本生化学会大会、2014 年 10 月 18 日、京都

52. 長野真、川村苑子、十島純子、十島二郎: 出芽酵母の内在性タンパク質の動態を解析するための新規な標識法の開発. 第 87 回日本生化学会大会、2014 年 10 月 17 日、京都

53. 長野真、十島純子、十島二郎: 出芽酵母 Rab5 ホモログ Vps21p の細胞内局在制御機構の解析. 第 47 回遺伝学フォーラム研究報告会、2014 年 9 月 1 日、東京 (口)

54. 十島純子、西ノ明 祥、佐藤祥史、山本 航、十島二郎: エンドサイトーシス経路と生合成経路の交叉点. 第 47 回遺伝学フォーラム研究報告会、2014 年 9 月 1 日、東京

55. 久保田千尋、岡田明日香、長島万希子、十島純子、十島二郎: 出芽酵母における Rho GTPase ファミリータンパク質によるアクチンケーブルの制御. 第 47 回遺伝学フォーラム研究報告会、2014 年 9 月 1 日、東京

56. 寒竹 晃司、富田剛史、仲田瑛亮、十島純子、十島二郎: 出芽酵母を用いた G タンパク質共役型受容体 Ste2p の細胞内リサイクリング機構の解析. 第 47 回遺伝学フォーラム研究報告会、2014 年 9 月 1 日、東京

57. 堀込知佳、岡田明日香、十島純子、十島二郎: アクチンケーブル形成における Srv2p のアクチン結合ドメインの機能解析. 第 47 回遺伝学フォーラム研究報告会、2014 年 9 月 1 日、東京

58. 小林宣、河田大樹、仲田瑛亮、富田剛史、長野真、十島純子、十島二郎: 出芽酵母 Arf GAP Glo3p による細胞膜タンパク質のリサイクリングの制御. 第 47 回遺伝学フォーラム研究報告会、2014 年 9 月 1 日、東京

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

十島 二郎 (TOSHIMA, Jiro)

東京理科大学・基礎工学部生物工学科・准教授

研究者番号: 00333831

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし