

研究 成 果 報 告 書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		生体膜小胞化活性を有する新規脂質結合ドメインによるエンドサイトーシスの制御機構			
研究テーマ (欧文) AZ		Molecular mechanism of endocytosis by a novel lipid-binding domain			
研究氏 代 表 名 者	カタカナ CC	姓)イトウ	名)トシキ	研究期間 B	2011 ~ 2012 年
	漢字 CB	伊藤	俊樹	報告年度 YR	2013 年
	ローマ字 CZ	Itoh	Toshiki	研究機関名	神戸大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		神戸大学大学院医学研究科・准教授			
<p>概要 EA (600 字～800 字程度にまとめてください。)</p> <p>細胞が外界物質を取り込む過程であるエンドサイトーシスおよびマクロピノサイトーシスは細胞増殖、免疫機構、細胞極性の形成など多様な生命現象において重要な役割を担う。本研究は、申請者らが見出した新たな脂質結合モジュール「SYLF ドメイン」を有するタンパク質 SH3YL1 の機能解析を通じて、エンドサイトーシスおよびマクロピノサイトーシスにおける膜小胞過程の分子機構を明らかにすることを目的とする。</p> <p>SH3YL1 の結合パートナーを探索するために、SH3YL1 がカルボキシル末端に持つ SH3 ドメインを用いた pull down 法を行ったところ、Arf に対する GAP 活性を有する ARAP1 を同定した。NIH3T3 細胞において ARAP1 の発現をノックダウンしたところ、血小板由来成長因子(PDGF)刺激による circular dorsal ruffle(CDR)の円環構造が拡大することが観察された。対照的に CMV プロモーター下における ARAP1 の異所的過剰発現によって、CDR の円環構造の収縮が促進することが明らかとなった。さらに ARAP1 のターゲットとして Arf1 および Arf5 を同定し、これらの GTP 型から GDP 型への変換が CDR の円環構造の形成と収縮に関与することを示した。これらの結果より、マクロピノサイトーシスを介した細胞外物質の取り込み現象に関与する CDR の形成と動態において、SH3YL1 から Arf ファミリー低分子量 G タンパク質に至るシグナル伝達の重要性が明らかとなった。また、SH3YL1 の SH3 ドメインがイノシトールリン脂質 PI (3, 4, 5)P₃ の脱リン酸化酵素である SHIP2 と結合すること、その産物である PI (3, 4)P₂ が CDR に特異的に局在することと併せて、CDR の動態を制御するアクチン細胞骨格の再編成において SH3YL1 が主要な機能を持つことを提示することが出来た。</p>					
キーワード FA	エンドサイトーシス	マクロピノサイトーシス	SYLF ドメイン		

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）										
雑誌	論文標題 ^{GB}	ARAP1 regulates the ring size of circular dorsal ruffles through Arf1 and Arf5.								
	著者名 ^{GA}	Hasegawa, J. et al.	雑誌名 ^{GC}	Mol. Biol. Cell						
	ページ ^{GF}	2481~2489	発行年 ^{GE}	2	0	1	2	巻号 ^{GD}	23	
雑誌	論文標題 ^{GB}	Mechanistic insights into the regulation of circular dorsal ruffle formation.								
	著者名 ^{GA}	Itoh, T.* and Hasegawa, J.	雑誌名 ^{GC}	J. Biochem.						
	ページ ^{GF}	21~29	発行年 ^{GE}	2	0	1	2	巻号 ^{GD}	153	
雑誌	論文標題 ^{GB}	SH3YL1 regulates dorsal ruffle formation by a novel phosphoinositide- binding domain.								
	著者名 ^{GA}	Hasegawa, J. et al.	雑誌名 ^{GC}	J. Cell Biol.						
	ページ ^{GF}	901~916	発行年 ^{GE}	2	0	1	1	巻号 ^{GD}	193	
図書	著者名 ^{HA}									
	書名 ^{HC}									
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}		
図書	著者名 ^{HA}									
	書名 ^{HC}									
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}		

欧文概要^{EZ}

The uptake of extracellular materials as well as ligand-receptor complex located at the plasma membrane is mainly mediated by endocytosis/macropinocytosis, and plays pivotal roles in a wide array of physiological events. In this study, we aimed to understand the molecular mechanism for vesicular formation during endocytosis/macropinocytosis. For this purpose, we focused on SH3YL1, which contains a novel lipid-binding module called the “SYLF” domain, and obtained a number of new findings.

By a pull down assay using the SH3 domain of SH3YL1, we identified ARAP1, a GAP molecule for Arf1 and 5, as a strong binding partner of SH3YL1. It was observed that the ring structure of PDGF-induced CDR significantly expanded when ARAP1 was knocked down in NIH3T3 cells. In contrast, smaller CDRs were seen by overexpression of exogenous ARAP1. It was further revealed that the GTP and GDP-bound states of Arf1/5 correlated with the size control of CDR as well as the efficiency of subsequent macropinocytosis. Together with our findings that SHIP2, a 5-phosphatase of PI(3,4,5)P₃, is another important binding partner of SH3YL1, we have proposed important roles for SH3YL1 in the regulation of actin cytoskeleton during CDR formation.