

様 式 C - 7 - 1

平成 2 6 年度科学研究費助成事業（科学研究費補助金）実績報告書（研究実績報告書）

1. 機関番号

1	4	6	0	3
---	---	---	---	---

 2. 研究機関名 奈良先端科学技術大学院大学
3. 研究種目名 基盤研究(A) 4. 研究期間 平成 2 3 年度 ~ 平成 2 6 年度
5. 課題番号

2	3	2	4	7	0	0	8
---	---	---	---	---	---	---	---
6. 研究課題名 表層微小管パターンの構築機構の解明

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
8 0 1 8 0 8 2 6	ハシモト タカシ 橋本 隆	バイオサイエンス研究科	教授

8. 研究分担者

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名

9. 研究実績の概要

1. 植物個体から重合活性をもつチューブリンを効率よく精製する方法を確立した。チューブリンヘテロ二量体に結合する微小管結合因子TOG1をカラムに充填した、チューブリン精製カラムを作製し、植物体粗抽出タンパク質液から直接に一段階で内在性野生型チューブリンを精製することに成功した。精製したチューブリンの翻訳後修飾を市販の動物チューブリン修飾抗体を用いて調べたところ、植物チューブリンではC末端のチロシン残基の除去は見られず、ポリグルタミン化も起こっていなかった。K40リジン残基のアセチル化は不明瞭な結果であった。また、ストレス処理した植物体から精製したリン酸化チューブリンは重合活性が低かった。さらに、ポリペプチド鎖内部にポリヒスチジンを挿入したチューブリンを発現させたアラビドプシス培養細胞から、組換えチューブリンを精製することにも成功した。

2. 微小管重合活性を保持した チューブリン含有環状複合体を精製するために、複合体因子であるMZT1aのC末端にGFPとStrepIIタグを付加した融合蛋白質を安定的に発現させたアラビドプシス培養細胞T87系統を作出した。この培養細胞系統の蛋白質粗抽出液からStreptactinビーズを用いて目的とする複合体を精製することに成功した。この精製複合体と精製チューブリンをin vitroで混合すると、GFPで標識された複合体から効率よく微小管が重合した。今後は、精製した複合体の全構成成分を抗体やMS解析などにより明らかにすると共に、微小管依存的な微小管重合に係るオーグミン複合体を同様の手法により精製し、植物細胞で見られる微小管重合様式を再現できる可能性が示唆された。

10. キーワード

(1) 微小管

(2) 植物

(3) 重合

(4) チューブリン

(5)

(6)

(7)

(8)

11. 現在までの達成度

(区分)

(理由)

26年度が最終年度であるため、記入しない。

12. 今後の研究の推進方策

(今後の推進方策)

26年度が最終年度であるため、記入しない。

13.研究発表(平成26年度の研究成果)

(雑誌論文) 計(1)件 うち査読付論文 計(1)件

著者名		論文標題			
Walia et al.		GCP-WD mediates g-TuRC recruitment and the geometry of microtubule nucleation in the acentrosoma interphase arrays of Arabidopsis.			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
Curr. Biol.	有	24	2014	2548-2555	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
10.1016/j.cub.2014.09.013.					

(学会発表) 計(3)件 うち招待講演 計(1)件

発表者名		発表標題	
高橋英之		ゼニゴケを用いたストレス誘導性の表皮微小管脱重合機構の解析	
学会等名	発表年月日	発表場所	
第56回日本植物生理学会年会	2015年03月16日～2015年03月18日	東京農業大学世田谷キャンパス、東京都世田谷区	

発表者名		発表標題	
堀田 崇		TOG カラムを用いた植物培養細胞からのチューブリン精製	
学会等名	発表年月日	発表場所	
第56回日本植物生理学会年会	2015年03月16日～2015年03月18日	東京農業大学世田谷キャンパス、東京都世田谷区	

発表者名		発表標題	
Takashi Hashimoto		Stress-induce destabilization of cortical microtubules is mediated by tubulin kinase	
学会等名	発表年月日	発表場所	
Front Lines of Plant Cell Wall Research (招待講演)	2015年03月20日～2015年03月21日	東大寺総合文化センター、奈良県奈良市	

〔図書〕計(0)件

著者名	出版社		
書名	発行年	総ページ数	

14. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

〔出願〕計(0)件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	出願年月日	国内・外国の別

〔取得〕計(0)件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	取得年月日	国内・外国の別
				出願年月日	

15. 備考

--