

## 様式 C - 7 - 1

## 平成27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	特別研究員奨励費																										
4. 研究期間	平成25年度～平成27年度																										
5. 課題番号	2 5 · 1 0 0 5 7																										
6. 研究課題名	細胞間接着構造の極性形成を開始させる新規タンパク質相互作用の構造生物学的研究																										
7. 研究代表者	<table border="1"> <tr> <th>研究者番号</th> <th>研究代表者名</th> <th>所属部局名</th> <th>職名</th> </tr> <tr> <td></td> <td>シバハラ タケノリ 柴原 豪了</td> <td>バイオサイエンス研究科</td> <td>特別研究員(DC1)</td> </tr> </table>			研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名		シバハラ タケノリ 柴原 豪了	バイオサイエンス研究科	特別研究員(DC1)																
研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名																								
	シバハラ タケノリ 柴原 豪了	バイオサイエンス研究科	特別研究員(DC1)																								
8. 研究分担者	<table border="1"> <tr> <th>研究者番号</th> <th>研究分担者名</th> <th>所属研究機関名・部局名</th> <th>職名</th> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table>			研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名																				
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

前年度までに、-catenin/merlin複合体の研究において、それらの相互作用領域を特定した。また、相互作用が確認できたタンパク質領域において結晶化スクリーニングを行い、いくつかの複合体結晶を得ることができたが、分解能の改善に難航していた。本年度は相互作用が確認できた領域のうち、これまで結晶化を試みていなかった領域について結晶化初期スクリーニングを行い、いくつかの結晶を得ることができた。結晶化に用いた溶液で得られた結晶を洗浄し、SDS-PAGEによって複合体であるかを確認した結果、E-catenin/merlin複合体の結晶である可能性が示唆された。そのため、放射光施設でのX線回折実験を行い、分解能2.5 angstromの回折データを取得した。分子置換法による位相決定、初期モデルの構築を行い、Rwork/Rfree=20.0/24.1まで構造精密化を行った。その結果、結晶の非対称単位中に、2分子のmerlin FERM (19-314)ドメインが存在していた。2分子のmerlin FERM (19-314)ドメインに対して、2分子のE-catenin由来の電子密度が確認できた。決定した結晶構造から、merlin FERM (19-314)ドメインのサブドメインCに位置する1Cと5Cの間に形成される疎水性の溝に、E-cateninがシートを形成して相互作用していた。

結晶構造から-cateninとの相互作用に重要なmerlinのアミノ酸残基として、疎水性アミノ酸残基Leu297とIle301が示唆された。それをグルタミン酸に置換したmerlin FERM (19-314) I301E変異体、L297E I301E変異体を調製して、N-catenin D1ドメイン (1-261)との相互作用解析を行った。その結果、merlin FERM (19-314) WTと比較して、各merlin FERM (19-314)変異体とN-catenin (1-261)との相互作用が著しく阻害された。このことから、merlinのLeu297とIle301は、-cateninとの相互作用に重要な残基として機能していることが示された。

## 10. キーワード

(1) 細胞接着	(2) $\gamma$ -catenin	(3) merlin	(4) X線結晶構造解析
(5) _____	(6) _____	(7) _____	(8) _____

## 11. 現在までの進捗状況

(区分)

(理由)

27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)

27年度が最終年度であるため、記入しない。

## 13.研究発表(平成27年度の研究成果)

(雑誌論文) 計(1)件 / うち査読付論文 計(1)件 / うち国際共著論文 計(0)件 / うちオープンアクセス 計(1)件

著者名	論文標題				
Shibahara, T., Hirano, Y., Hakoshima, T.					Structure of the free form of the N-terminal VH1 domain of monomeric -catenin.
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著
FEBS Letters	有	589	2   0   1   5	1754-1760	-
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
10.1016/j.febslet.2015.05.053					
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)					

(学会発表) 計(1)件 / うち招待講演 計(0)件 / うち国際学会 計(0)件

発表者名	発表標題	
Shibahara, T.	-catenin VH1ドメインの遊離型単量体の結晶構造解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
第38回 日本分子生物学会年会	2015年12月01日 ~ 2015年12月04日	神戸ポートアイランド(兵庫県神戸市)

(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

(課題番号： 25·10057 )

(注)・印刷に当たっては、A4判(縦長)・両面印刷すること。

(3/4)

(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.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

国際研究集会名	開催年月日	開催場所

16.本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

(1)国際共同研究: -

17.備考