

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 新学術領域研究（研究領域提案型） 4. 研究期間 平成 26 年度～平成 30 年度
5. 課題番号

2	6	1	1	6	0	0	6
---	---	---	---	---	---	---	---
6. 研究課題名 mRNA の局在化に働く新生鎖の機能解析

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
5 0 1 4 2 0 0 5	コウノ ケンジ 河野 憲二	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

<p>1 翻訳アレストによる XBP1u mRNA の小胞体膜への標的化機構の解明 (1) 翻訳アレストの強さは、XBP1u(S255A) > 野生型 XBP1u > XBP1u(W256A) の順に強く、XBP1u と分泌経路に重要な役割をする SRP 及びトランスロコンとの結合を免疫沈降により調べた所、これらのコンポーネントも同じ傾向を示した。翻訳アレストを起こさない XBP1u(W256A) では、両者との結合は見られなかった。(2) 同様に上記の XBP1u を培養細胞に発現し、その細胞内局在を蛍光抗体染色により調べた所、翻訳アレストの強さに比例して小胞体膜に局在化することが明らかとなった。(3) 小麦胚芽抽出液を用いた in vitro 翻訳系に SRP とミクロソーム膜画分を加え、新生鎖と mRNA との膜画分への移行が SRP 依存しているかどうかを調べた所、SRP に依存して膜画分へ移行することを証明した。 2 翻訳アレスト機構の解析 翻訳アレスト領域がリボソームのトンネルとどのように相互作用しているかは、光架橋法により現在解析中である。</p>

10. キーワード

(1) 蛋白質	(2) 翻訳ポーシング	(3) 小胞体ストレス応答	(4)
(5)	(6)	(7)	(8)

11. 現在までの進捗状況

(区分)(2) おおむね順調に進展している。

(理由)

XBP1uの翻訳停止に依存して、SRP経路を利用して小胞体膜上に移動していることを、立証するデータを得ることができ、現在その結果を論文として投稿中である。

12. 今後の研究の推進方策

(今後の推進方策)

1 翻訳アレストによるXBP1u mRNAの小胞体膜への標的化機構の解明

小胞体へのシグナル配列に相当するHR2は、小胞体膜上のトランスロコンまでは運ぶが、調べた限り小胞体膜内への挿入効率は低い。この理由を明らかにするために、HR2をN末に配置すると通常のシグナル配列として機能するかどうか、またHR2とポーシング配列までの長さとの関係と膜への局在化効率との関係を調べ、小胞体内への輸送がXBP1u 蛋白質の場合どのように制御されているのかを明らかにする。

2 翻訳アレストの分子機構の解析

翻訳アレスト領域とリボソーム内との相互作用を光架橋によりどの分子と相互作用しているかを明らかにする。またXBP1u を酵母で発現し、翻訳アレストが起きるかどうかを調べる。もし効率良く起こるようであれば、酵母の系を使って解析を進めることも考えたい。ヒト由来のハプロイド細胞(KBM7細胞)を用いて、gene-trap mutagenesisを利用した遺伝子ノックアウトスクリーニングを行う系の樹立に苦戦をしているが、引き続きこの系の確立を目指す。

13. 研究発表(平成27年度の研究成果)

(雑誌論文) 計(4)件/うち査読付論文 計(3)件/うち国際共著論文 計(0)件/うちオープンアクセス 計(2)件

著者名		論文標題				
Tsuru, A., Imai, Y., Saito, M., and Kohno, K.		Novel mechanism of enhancing IRE1 -XBP1 signalling via the PERK-ATF4 pathway.				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著	
Sci. Rep.	有	6	2016	24217 (1-8)	-	
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)						
10.1038/srep24217						
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)						

著者名		論文標題				
Hirai, S., Kurashima, H., Nakamura, D., Komatsu, T., Yasuda, Y., Habashita-Obata, S., Ichikawa, S., Katsuta, O., Iwawaki, T., and Kohno, K.		2-Phenyl-APB-144-induced retinal pigment epithelium degeneration and its underlying mechanisms.				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著	
J. Ocul. Pharmacol. Ther.	有	31	2015	570-584	-	
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)						
10.1089/jop.2014.0076						
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						

著者名		論文標題				
Mathuranyanon, R., Tsukamoto, T., Takeuchi, A., Ishiwata-Kimata, Y., Tuchiya, Y., Kohno, K., and Kimata, Y.		Tight regulation of the unfolded protein sensor Ire1 by its intramolecularly antagonizing subdomain.				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著	
J. Cell Sci.	有	128	2015	1762-1772	-	
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)						
10.1242/jcs.164111						
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)						

著 者 名		論 文 標 題				
小池雅昭, 河野憲二		タンパク質品質管理				
雑 誌 名		査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著
生体の科学		無	66	2 0 1 5	490-491	-
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)						
なし						
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						

(学会発表) 計(22)件/うち招待講演 計(1)件/うち国際学会 計(3)件

発 表 者 名		発 表 標 題	
Akio Tsuru, Yasutaka Imai, Michiko Saito, Kenji Kohno		PERK-ATF4 branch of the unfolded protein response is required for the full activation of IRE1a-XBP1 signaling	
学 会 等 名		発 表 年 月 日	発 表 場 所
FASEB Science Research Conferences, "From Unfolded Proteins in the ER to Disease" (国際学会)		2015年06月14日 ~ 2015年06月19日	Saxtons River, VT (USA)

発 表 者 名		発 表 標 題	
曾川 愛守榮, 大古殿 美加, 柳谷 耕太, 河野 憲二		哺乳動物細胞における XBP1u 新生ポリペプチド鎖の翻訳停止後にたどる運命	
学 会 等 名		発 表 年 月 日	発 表 場 所
第67回日本細胞生物学会大会		2015年06月30日 ~ 2015年07月02日	タワーホール船堀(東京都・江戸川区)

発 表 者 名		発 表 標 題	
大古殿 美加, 齊藤 美知子, 宮崎 純一, 岩脇 隆夫, 河野 憲二		XBP1uタンパク質の翻訳停止機構の解析	
学 会 等 名		発 表 年 月 日	発 表 場 所
第67回日本細胞生物学会大会		2015年06月30日 ~ 2015年07月02日	タワーホール船堀(東京都・江戸川区)

(課題番号: 26116006)

(注)・印刷に当たっては、A4判(縦長)・両面印刷すること。

(4/11)

発表者名	発表標題	
藤本 拓志、斎藤 美知子、都留 秋雄、河野 憲二、稲葉 謙次、門倉 広	隣特異的に発現するPDIファミリータンパク質(PDIp)の生理的機能の解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
第67回日本細胞生物学会大会	2015年06月30日 ~ 2015年07月02日	タワーホール船堀(東京都・江戸川区)

発表者名	発表標題	
金谷 健太郎、土屋 雄一、河野 憲二、稲葉 謙次、門倉 広	インスリンと相互作用するPDIファミリータンパク質の同定	
学会等名	発表年月日	発表場所
第67回日本細胞生物学会大会	2015年06月30日 ~ 2015年07月02日	タワーホール船堀(東京都・江戸川区)

発表者名	発表標題	
高橋 千恵、大西 由希子、木田 祐一郎、柳谷 耕太、河野 憲二、阪口 雅郎	リボソームによる新生鎖の感知とトランスロコンの機能制御	
学会等名	発表年月日	発表場所
第67回日本細胞生物学会大会	2015年06月30日 ~ 2015年07月02日	タワーホール船堀(東京都・江戸川区)

発表者名	発表標題	
Satoshi Kanda, Kota Yanagitani, Kenji Kohno	A novel role of SRP pathway for efficient ER-targeting of translation-paused XBP1u in ER homeostasis	
学会等名	発表年月日	発表場所
Gordon Research Conferences "Stress Proteins in Growth, Development & Disease" (国際学会)	2015年07月05日 ~ 2015年07月10日	Barga (Italy)

発表者名	発表標題	
小池 雅昭	ペプチド伸長鎖因子EF2におけるシフトミド修飾の生理的意義の解明	
学会等名	発表年月日	発表場所
第2回新生鎖若手ワークショップ	2015年09月28日 ~ 2015年09月30日	山形蔵王(山形県・山形市)

発表者名	発表標題	
保田 裕貴	タンパク質の品質管理に関わる小胞体膜タンパク質 DNAJB12 および DNAJB14 の機能解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
第2回新生鎖若手ワークショップ	2015年09月28日 ~ 2015年09月30日	山形蔵王(山形県・山形市)

発表者名	発表標題	
苅田 聡	A novel role of SRP pathway on XBP1u localization and ER homeostasis.	
学会等名	発表年月日	発表場所
第2回新生鎖若手ワークショップ	2015年09月28日 ~ 2015年09月30日	山形蔵王(山形県・山形市)

発表者名	発表標題	
曾川 愛守栄	哺乳動物細胞における XBP1u 新生鎖のたどる翻訳停止後の運命	
学会等名	発表年月日	発表場所
第2回新生鎖若手ワークショップ	2015年09月28日 ~ 2015年09月30日	山形蔵王(山形県・山形市)

発表者名	発表標題	
大古殿 美加	XBP1u タンパク質の翻訳停止機構の解明	
学会等名	発表年月日	発表場所
第2回新生鎖若手ワークショップ	2015年09月28日 ~ 2015年09月30日	山形蔵王(山形県・山形市)

発表者名	発表標題	
額田 知美	ペプチド伸長鎖因子EF2におけるジフタミド修飾の生理的意義の解明	
学会等名	発表年月日	発表場所
第2回新生鎖若手ワークショップ	2015年09月28日 ~ 2015年09月30日	山形蔵王(山形県・山形市)

発表者名	発表標題	
河野 憲二	mRNAの局在化に働く新生鎖の機能解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
新学術領域研究会議	2015年11月13日 ~ 2015年11月15日	山形天童温泉(山形県・天童市)

発表者名	発表標題	
小池 雅昭	eEF2におけるジフタミド修飾の生理的意義の解明	
学会等名	発表年月日	発表場所
新学術領域研究会議	2015年11月13日 ~ 2015年11月15日	山形天童温泉(山形県・天童市)

発表者名	発表標題	
大古殿 美加	XBP1uタンパク質の翻訳停止機構の解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
新学術領域研究班会議	2015年11月13日 ~ 2015年11月15日	山形天童温泉(山形県・天童市)

発表者名	発表標題	
効田 聡	翻訳停止と共役したSRP経路によるXBP1スプライシングの促進	
学会等名	発表年月日	発表場所
小胞体ストレス研究会	2015年11月29日 ~ 2015年11月30日	淡路夢舞台(兵庫県・淡路市)

発表者名	発表標題	
効田 聡、横田 有希子、江崎 悠太、柳谷 耕太、河野 憲二	翻訳停止と共役したSRP経路によるXBP1スプライシングの促進	
学会等名	発表年月日	発表場所
BMB2015(日本分子生物学会年会・日本生化学会大会 合同大会)	2015年12月01日 ~ 2015年12月04日	神戸ポートピアホテル(兵庫県・神戸市)

発表者名	発表標題	
藤本 拓志、斉藤 美知子、都留 秋雄、松本 雅記、河野 憲二、稲葉 謙次、門倉 広	臓腑特異的に発現しているPDIファミリータンパク質(PDIp)の生理的な機能の解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
BMB2015(日本分子生物学会年会・日本生化学会大会 合同大会)	2015年12月01日 ~ 2015年12月04日	神戸ポートピアホテル(兵庫県・神戸市)

発表者名	発表標題	
額田 知美、小池 雅昭、山田 麗奈、齊藤 美知子、伊川 正人、河野 憲二	哺乳動物細胞におけるeEF2 ジフタミド修飾の機能解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
BMB2015(日本分子生物学会年会・日本生化学会大会 合同大会)	2015年12月01日 ~ 2015年12月04日	神戸ポートピアホテル(兵庫県・神戸市)

発表者名	発表標題	
大古殿 美加、曾川 愛守榮、木俣 行雄、河野 憲二	XBP1uタンパク質の翻訳停止機構の解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
BMB2015(日本分子生物学会年会・日本生化学会大会 合同大会)	2015年12月01日 ~ 2015年12月04日	神戸ポートピアホテル(兵庫県・神戸市)

発表者名	発表標題	
Kenji Kohno	Autonomous translational pausing is required for ER targeting and cytoplasmic splicing of XBP1u mRNA.	
学会等名	発表年月日	発表場所
NAIST International Workshop "New era of pre-mRNA splicing world" (招待講演) (国際学会)	2016年03月14日	奈良先端大(奈良県・生駒市)

(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. 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: 国際共同研究である

共同研究相手国	相手方研究機関			
United States of America	University of California, SF	-	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-
-				

17. 備考

動物細胞工学(河野研究室)

<http://bsw3.naist.jp/courses/courses207.html>

動物細胞工学研究室(河野研)

<http://bsw3.naist.jp/kouno/>

Molecular and Cell Genetics

<http://bsw3.naist.jp/eng/courses/courses207.html>