

様式 F - 7 - 2

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）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	若手研究(B) 4. 補助事業期間 平成28年度～平成28年度																										
5. 課題番号	1 6 K 1 8 5 6 8																										
6. 研究課題名	植物の枝分かれ微小管形成のin vitro再構成																										
7. 研究代表者	<table border="1"> <thead> <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> </thead> <tbody> <tr> <td>5 0 6 4 4 4 5 7</td> <td>ホッタ タカシ 堀田 崇</td> <td>バイオサイエンス研究科</td> <td>博士研究員</td> </tr> </tbody> </table>			研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名	5 0 6 4 4 4 5 7	ホッタ タカシ 堀田 崇	バイオサイエンス研究科	博士研究員																
研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名																								
5 0 6 4 4 4 5 7	ホッタ タカシ 堀田 崇	バイオサイエンス研究科	博士研究員																								
8. 研究分担者	<table border="1"> <thead> <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> </thead> <tbody> <tr><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> </tbody> </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	<p>微小管は植物細胞の分裂や伸長に必須の細胞骨格である。中心体を持たない植物において、微小管がどこでどのように作られるかを明らかにすることは重要な課題である。近年、微小管側面からの微小管新生（いわゆる枝分かれ微小管形成）が見いだされており、この枝分かれにオーグミン複合体と チューブリン複合体という二つのタンパク質複合体が関与することが示されている。しかしながら、精製したタンパク質を用いて微小管の枝分かれ現象を再現した報告はいまだになく、枝分かれ現象の分子機構の解明には至っていない。</p> <p>本研究では、植物細胞から構造・活性を保持した チューブリン複合体、オーグミン複合体およびチューブリンを精製し、これらを用いて顕微鏡下で微小管の枝分かれを再現することを目標とした。</p> <p>まず チューブリン複合体を生理的条件下で精製する方法の確立を目指した。チューブリン複合体の構成因子であるMzt1aのC末端に GFP-strep tag II-Hisを融合したコンストラクトをシロイヌナズナ培養細胞T87に形質転換した。得られた形質転換体からStrep-Tactinを用いてタンパク質精製を行ったところ、既知の チューブリン複合体構成タンパク質が得られた。しかし極めて多くの内在性ビオチン化タンパク質の共精製が避けられなかつたため、Niカラムを用いた二段階目の精製を行つた。結果、 チューブリン複合体が高度に精製された。またこの精製 チューブリン複合体が微小管重合活性を保持していることも確認できた。</p> <p>二段階精製の有効性が確認できたので同様の手法でオーグミン複合体の精製に取り組んだ。しかしながら、オーグミン複合体は解離しやすく、時間のかかる二段階精製には不向きであることが明らかとなつた。今後は生理的条件下で、1ステップでかつ高度に精製できる方法（例えば免疫沈降後のペプチド競合溶出など）を検討する必要があると結論づけた。</p>																										
10. キーワード	(1) 微小管	(2) 細胞骨格	(3) 植物																								
(5)	(6)	(7)	(8)																								

(注)・印刷に当たっては、A4判(縦長)・両面印刷すること。

(1/3)

11.研究発表

〔雑誌論文〕 計(0)件 / うち査読付論文 計(0)件 (最終年度分)

/ うち国際共著論文 計(0)件 (最終年度分) / うちオープンアクセス 計(0)件 (最終年度分)

著者名	論文標題				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
オープンアクセス					

〔学会発表〕 計(0)件 / うち招待講演 計(0)件 (最終年度分) / うち国際学会 計(0)件 (最終年度分)

発表者名	発表標題	
学会等名	発表年月日	発表場所

〔図書〕 計(0)件 (最終年度分)

著者名	出版社	
書名	発行年	総ページ数

12. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

〔出願〕 計(0)件 (最終年度分)

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 (最終年度分)

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

13. 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 (最終年度分)

国際研究集会名	開催年月日	開催場所

14. 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: -

15. 備考

--