

平成21年度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(B)(一般)      4. 研究期間 平成20年度～平成22年度

5. 課題番号 2 0 3 7 0 0 3 8

6. 研究課題名 スプライソソーム非依存型スプライシングの構造的基盤

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 3 3 3 5 6 3	フリガナ コジマ チョウジロウ 児嶋 長次郎	バイオサイエンス研究科	准教授

8. 研究分担者(所属研究機関名については、研究代表者の所属研究機関と異なる場合のみ記入すること。)

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名
0 0 1 6 4 7 7 3	フリガナ ハコシマ トシオ 箱嶋 敏雄	情報科学研究科	教授
8 0 4 1 8 5 7 4	フリガナ オオキ イズル 大木 出	バイオサイエンス研究科	助教
	フリガナ		
	フリガナ		
	フリガナ		

9. 研究実績の概要

下欄には、当該年度に実施した研究の成果について、その具体的内容、意義、重要性等を、交付申請書に記載した「研究の目的」、「研究実施計画」に照らし、600字～800字で、できるだけ分かりやすく記述すること。また、国立情報学研究所でデータベース化するため、図、グラフ等は記載しないこと。

本研究では小胞体ストレス応答におけるIRE1経路で見いだされた、スプライソソーム非依存型スプライシング機構の構造的基盤の解明を目指している。具体的には酵母Ire1pのRNaseドメイン、基質mRNA、およびこれらの複合体の構造解析を行い、配列特異的なmRNA切断機構を明らかにすること、またRNaseドメインを含むC末端ドメイン全長の立体構造情報にもとづき、RNaseドメインを含むC末端ドメイン全長が持つmRNA切断活性の調節機構を解明することを目指している。

酵母Ire1p RNaseドメインの構造解析：平成20年度に引続きNMRおよびCDなどからRNaseドメインの構造情報を得た。また、NMR測定のための<sup>13</sup>C <sup>15</sup>N安定同位体標識を行い、NMR信号の帰属のための各種測定と立体構造決定のためのNOESYの測定を行い、信号帰属と構造解析を進めた。ピークの重なりやマイナーピークが存在によって帰属は困難を極めたが、選択標識により主鎖帰属を完了することが出来た。

HAC1 mRNA切断部位を含むステムループRNAの構造解析：Ire1pが認識するRNA配列に配列特異的な立体構造があるかどうかを明らかにするために、平成20年度に引続きHAC1 mRNAの2つのステムループのNMR構造解析に取り組んだ。化学合成法と酵素法を用いて<sup>13</sup>C <sup>15</sup>N安定同位体標識を行い、NMR信号の帰属のための各種測定と立体構造決定のためのNOESYの測定を行った。また化学合成法において新規安定同位体標識技術を開発した。

変異体を用いたmRNA認識機構の解明：HAC1 mRNAを用いてNMR滴定実験を行い、HAC1 mRNAの認識に関与するRNaseドメインのアミノ酸残基を同定した。

10. キーワード

- |           |          |         |
|-----------|----------|---------|
| (1) 構造生物学 | (2) NMR  | (3) RNA |
| (4) タンパク質 | (5) 分子認識 | (6)     |
| (7)       | (8)      |         |

(裏面に続く)

11. 研究発表（平成21年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計（ 3 ）件    うち査読付論文 計（ 1 ）件

著者名	論文標題				
Takashi Oda	The structure of the N-terminal regulatory domain of a plant NADPH oxidase and its functional implications				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
J. Biol. Chem.	有	285	2010	1435-1445	

著者名	論文標題				
Ikumi kawahara	NMR studies of <i>HAC1</i> mRNA				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
Nucleic Acids Symp. Ser.	無	53	2009	269-270	

著者名	論文標題				
Hisaaki Tateoka	Preparations of hammerhead ribozymes for investigations of their cleavable sequences				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
Nucleic Acids Symp. Ser.	無	53	2009	277-278	

〔学会発表〕 計（ 1 ）件    うち招待講演 計（ 0 ）件

発表者名	発表標題		
河原郁美	NMRを用いた小胞体ストレスセンサータンパク質Ire1pの基質認識機構の解析		
学会等名	発表年月日	発表場所	
第32回 日本分子生物学会年会	2009年12月9-12日	パシフィコ横浜（横浜市）	

〔図書〕 計（ 0 ）件

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

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

13. 備考

※ 研究者又は所属研究機関が作成した研究内容又は研究成果に関するwebページがある場合は、URLを記載すること。

--