

平成22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      特別研究員奨励費      4. 研究期間      平成19年度～平成22年度
5. 課題番号 1 9 ・ 4 5 1 2 2
6. 研究課題名      微小管ダイナミクスを制御する蛋白質複合体の構造学的研究

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
	三島(前崎) 綾子	情報科学研究科	特別研究員(RPD)

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

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。

CLIP-170 の二つの CAP-Gly ドメインによる微小管認識機構の解明 及び CLIP-170 の自己抑制機構の解明についての研究を行った。NMR を用いた構造解析に向けて、昨年度に引き続きサンプル調製およびスペクトルの測定を行った。

特にCAP-Gly1,2と $\alpha,\beta$ -tubulinとの相互作用を検討する研究では、分子量が大きいため、100%重水での培養及びサンプル調製を行った。さらに、大腸菌を用いた蛋白質発現及び精製が困難であると考えたサンプルについては、昆虫細胞Sf9 を用いた培養を行った。今年度の研究については、NMRを用いた研究が主だったため、共同研究先の首都大学東京の有機構造生物化学研究室において行った。Sf9細胞の培養については、首都大学東京において、培養の立ち上げから行っており、昨年度までに、一度ウィルスの作成を終えたが目的たんぱく質の溶解度に問題があり、コンストラクトを再検討して、ウィルスの作成、および大量培養を行った。CLIP-170 の二つのCAP-Glyドメインによる微小管認識機構の解明については、相互作用の相手が $\alpha,\beta$ -tubulinであることから、複合体の構造解析が難航しているが、本研究中に発見した、CLIP-170のCAP-Glyドメインとある種のリン脂質との複合体の構造解析については、複合体構造解析に有用なNMRのスペクトルが得られた。よって、他のたんぱく質のCAP-Glyドメインと、このリン脂質との相互作用を網羅的に検討するため、他の10種類のたんぱく質のCAP-Glyドメインのコンストラクトを作成、培養、精製を行い、NMRを用いた結合実験を行った。この他、微小管ダイナミクスの制御に関与するCLIP-170の周辺たんぱく質の構造解析に向けて、コンストラクトの作成、培養、精製、および、より良い性質のたんぱく質を得るため、NMRでのシグナル測定を用いて、溶液条件の検討および、リコンストラクトなどを行い、構造解析に向けての研究を行った。

10. キーワード

- (1) タンパク質複合体      (2) 微小管結合蛋白質      (3) 立体構造解析
- (4) X線結晶構造解析      (5) NMR      (6)
- (7)      (8)      (裏面に続く)

## 11.研究発表（平成22年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計（ 0 ）件 うち査読付論文 計（ 0 ）件

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

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

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

〔学会発表〕 計（ 5 ）件 うち招待講演 計（ 0 ）件

発表者名	発表標題		
佐伯邦道	チューブリンチロシン化酵素の構造研究		
学会等名	発表年月日	発表場所	
第10回日本蛋白質科学会年会	2010年6月16日	札幌コンベンションセンター	

発表者名	発表標題		
金場哲平	微小管制御蛋白質EB1 の構造研究		
学会等名	発表年月日	発表場所	
第10回日本蛋白質科学会年会	2010年6月16日	札幌コンベンションセンター	

発表者名	発表標題		
佐伯邦道	溶液NMRによるチューブリンチロシン化酵素の構造研究		
学会等名	発表年月日	発表場所	
第48回日本生物物理学会年会	2010年9月22日	東北大学 川内キャンパス	

発表者名	発表標題		
金場哲平	EB1 による微小管ダイナミクス制御機構についての構造研究		
学会等名	発表年月日	発表場所	
第49回NMR討論会	2010年11月17日	タワーホール船堀	

発表者名	発表標題		
佐伯邦道	溶液NMRを用いた、人チューブリンチロシン化酵素の構造研究		
学会等名	発表年月日	発表場所	
第33回日本分子生物学会	2010年12月7日	神戸ポートアイランド	

〔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w e b ページがある場合は、U R Lを記載すること。

--