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

5. 課 題 番 号 2 0 ・ 6 6 1 2

6. 研究課題名 植物のジベレリンシグナル伝達における構造生物学的解析

7. 研究代表者

| 研 | 究 | 者 | 番 | 号 | | 研究代 | 表者名 | 所 | 属 | 部 | 局 | 名 | 職 | 名 |
|-----|---|---|---|---|---|-----|-----|---|-----|-----|-----|----------|-----|-----|
| | į | i | į | i | į | ムラセ | コウジ | | | | | | 特別和 | 研究員 |
| : : | ! | : | - | - | | 村瀬 | 浩司 | 信 | 手報和 | 斗学矿 | 开究和 | <u>ት</u> | (E | PD) |

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 |
|--------------------------|---------------------|------|----------------------------|------------------|---|-----|-----|-------------|---|---|
| | 1 1 1 1 | | Î | 1 1 1 1 | 1 | | | | | |
| | | 1 | | 1 | | | | | | |
| | 1 | 1 | 1 | 1 | | | | | | |
| 1 ! 1 ! 1 ! 1 ! | | | 1 | | 1 | | | | | |
| | | 1 | - - - - - - | | | | | | | |

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。

本年度は前年度に引き続きアブラナ科植物の自家不和合性に関わる分子の構造解析を目的とする研究を行った。本年度は自家不和合性反応において柱頭で認識反応を行う受容体キナーゼSRKの大量発現系の構築を行った。SRKのキナーゼドメインは大腸菌で発現させると大部分が封入体となって沈殿した。また、可溶性の部分もゲル濾過クロマトグラフィーに供するとほとんどが排除限界に溶出され、正しくフォールディングされていない凝集体となっていることが判明した。この問題を解決するために、フォールディングに悪影響を与えていると予想される24のアミノ酸をピックアップし、ほかのSRKがもっているアミノ酸に置換してフォールディングの改善を試みた。24の置換アミノ酸をもつSRKについて大腸菌で発現させ、そのフォールディングをゲル濾過クロマトグラフィーによって解析したところ、いくつかの置換型SRKのフォールディングに改善がみられた。次に、それらの置換アミノ酸を組み合わせたコンストラクトを作製し、同様に大腸菌で発現させてフォールディングの改善を試みたところ、5つのアミノ酸置換を入れたコンストラクトでかなりの改善が観察された。さらにアミノ酸置換を加えて試験したところ、7つのアミノ酸置換を入れたコンストラクトで、大部分のSRKタンパク質がフォールディングした形で回収することができた。この成果により、SRKのキナーゼドメインはLB培地1Lにつき1-2mg程度発現させることが可能になり、今後の結晶化スクリーニングを行うための基盤を築くことができた。

10. キーワード

| (1) | 自家不和合性 | (2) | アブラナ科 | (3) | 構造解析 |
|-----|--------|-----|-------|-----|---------|
| (4) | | (5) | | (6) | |
| (7) | | (8) | | | (裏面に続く) |

[雑誌論文] 計(5)件 うち査読付論文 計(0)件

| 著 者 名 | 論 | 文 標 | 題 | |
|-------|-----------------|--------|---------|---------|
| | ついに解明!! ジベレリンの作 | 用機構 ―ジ | ベレリンは | フタ」を閉じ |
| | <u>১</u> | | | |
| 雑 誌 名 | 査読の有無 | 巻 | 発 行 年 | 最初と最後の頁 |
| 化学 | なし | 65 | 2 0 1 0 | 30-35 |

| 著 者 名 | 論 | 文 標 | 題 | |
|----------------|---------------|--------|---------|---------|
| 箱嶋敏雄、村瀬浩司、平野良憲 | ジベレリン受容体のジベレリ | ン識別とエス | フェクター認 | 戠 |
| 、Tai-ping Sun | | | | |
| 雑 誌 名 | 査読の有無 | 巻 | 発 行 年 | 最初と最後の頁 |
| 日本結晶学会誌 | なし | 52 | 2 0 1 0 | 37-41 |

| 著 者 名 | | 論 | 文 標 | 題 | |
|----------------|---------|--------|--------|-----------|---------|
| 村瀬浩司、平野良憲、箱嶋敏雄 | ジベレリンの受 | 容と情報伝達 | の分子メカニ | ニズム | |
| 雑 誌 名 | | 査読の有無 | 巻 | 発 行 年 | 最初と最後の頁 |
| 植物の生長調節 | | なし | 45 | 2 0 1 1 0 | 40-48 |

| | 著 者 名 | | | | 論 | 文 | 標 | 題 | | | | |
|-------|-------|----|----|---------|--------|----|------|----|----|-----|---|-----------|
| 村瀬浩司、 | 平野良憲、 | 箱嶋 | 敏雄 | ユビキチン修飾 | 系による植物 | ホル | モン刺泡 | 敫伝 | 達f | 制御 |] | |
| | 雑 | 誌 | 名 | | 査読の有無 | | 巻 | | 発行 | 亍 年 | 1 | 最初と最後の頁 |
| 細胞工学 | | | | | なし | | 29 | 2 | 0 | 1 | 0 | 1209-1215 |

| 著 者 名 | 論 | 文 標 | 題 | |
|------------------------------|---------------|--------|---------|---------|
| 西村宜之、平野良憲、人見研一 、箱嶋敏雄、村瀬浩司 | 植物ホルモンの受容とシグナ | ル伝達の構造 | 告基盤 | |
| 雑 誌 名 | 査読の有無 | 巻 | 発 行 年 | 最初と最後の頁 |
| 化学と生物 | なし | 49 | 2 0 1 1 | 161-169 |

[学会発表]計(0)件 うち招待講演計(0)件

| (1 A 70 A 7 H (0 7 H) | 214 M 191 (| © / II | | | | | |
|-------------------------|-------------|--------|-----|---|---|----|---|
| 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

| 著 者 名 | Н | 上版 社 | | |
|-------|----|------|-------|-------|
| | | | | |
| | 書名 | | 発 行 年 | 総ページ数 |
| | | | i i i | |

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

| | 7 11 | | | | |
|----------|------|-----|-------------|-------|---------|
| 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 |
|----------|-----|-----|-------------|-------|---------|
| | | | | | |

| 1 | 2 | /# | 型 |
|----|----|------|----------|
| -1 | ο. | 1)/# | 1 |

| 13. | 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。 | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |