

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 14603 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 特定領域研究 4. 研究期間 平成20年度～平成21年度

5. 課題番号 20051017

6. 研究課題名 細胞膜足場形成の多次元複合体の構造生物学

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
00164773	箱嶋 敏雄	情報科学研究科	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
50452529	平野 良憲	情報科学研究科	助教

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、Tiam1/STEFとCD44, PAR3, JIP2との複合体の調製と基礎実験を重点的に推進した。CD44の細胞質ドメインとPAR3の結合領域は、大腸菌でGST-融合タンパク質として調製して、プルダウンアッセイやBIAcoreを用いた結合実験により結合に必要な最小領域を決定した。その結果、酸性残基に富む領域が結合部位と判明した。アミノ酸配列の特徴から、CD44やephrin B1,1,3あるいはNMDA受容体等のmotif-I, PAR3やJIP2等のmotif-IIとの分類した。

前年度に構造決定したTiam1/STEFのPHCCExドメインには塩基性残基が密集した溝がある。これらを含んだ保存された塩基性残基(ArgとLys)にAla変異を導入して、CD44, PAR3, JIP2との結合への影響を調べた。その結果、結合部位をCCサブドメインとExサブドメインからなる塩基性の溝と同定した。motif-Iとmotif-IIの両者ともこの溝に結合することもわかった。

更に、上記の相互作用が細胞レベルでも重要であるかどうかを、変異Tiam1を用いて解析した。その結果、結合部位での変異が細胞膜の葉状仮足の誘導へ大きく影響することがわかり、細胞レベルでも上記の相互作用が重要であることが証明できた。

以上のデータをまとめて、**EMBO Journal**に論文発表した。

また、これと平行して、植物ホルモン受容体の構造研究を推進して、ジベレリン受容体によるジベレリン認識と標的タンパク質認識に関しての構造的知見を更に深めるために、合成アゴニストとの相互作用の解析を行った。

10. キーワード

- (1) タンパク質 (2) 複合体 (3) 足場形成  
 (4) 細胞骨格 (5) 接着分子 (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（6）件 うち査読付論文 計（2）件

著者名	論文標題			
Terawaki, S.	The PHCCEX domain of Tiam1/2 is a novel protein- and membrane-binding module.			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
EMBO J.	有	29	2010	236-250

著者名	論文標題			
Kitano, K	Structural Basis for DNA Strand Separation by the Unconventional Winged-Helix Domain of RecQ Helicase WRN.			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Structure	有	18	2010	177-187

著者名	論文標題			
平野 良憲	植物ホルモン受容体によるシグナル伝達制御の構造研究			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
蛋白質核酸酵素	無	54	2009	833-842

著者名	論文標題			
箱嶋 敏雄	植物によるジベレリンの感知とシグナル伝達			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
生物物理	無	49	2009	200-201

著者名	論文標題			
森 智行	リボソームの構造と機能の研究			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
化学	無	65	2010	45-48

著者名	論文標題			
箱嶋 敏雄	ジベレリン受容体のジベレリン識別とエフェクター認識			
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	無	52	2010	37-41

〔学会発表〕 計（17）件 うち招待講演 計（5）件

発表者名	発表標題	
箱嶋敏雄	複合体研究の基礎と応用：+TIPs 間の相互作用と阻害剤	
学会等名	発表年月日	発表場所
第9回日本蛋白質科学会年会 ワークショップ「細胞内シグナル伝達の構造生物学とその応用」	2009年5月22日	熊本

発表者名	発表標題	
Kohji Murase	Mechanism of gibberellin perception and DELLA protein recognition by the Arabidopsis gibberellin receptor	
学会等名	発表年月日	発表場所
Plant Biology 2009 (Joint Annual Meetings of the American Society of Plant Biologists and the Phycological Society of America)	2009年7月19日	Honolulu, USA

発表者名	発表標題	
Kohji Murase	Structure-function analysis of GA receptor and DELLA protein in Arabidopsis	
学会等名	発表年月日	発表場所
<i>Plant Biology 2009 (Joint Annual Meetings of the American Society of Plant Biologists and the Phycological Society of America)</i>	2009年7月20日	Honolulu, USA

発表者名	発表標題	
箱嶋敏雄	ジベレリン受容体GID1とDELLAタンパク質複合体の構造	
学会等名	発表年月日	発表場所
特定領域研究「生体超分子の構造形成と機能制御の原子機構」第5回ワークショップ	2009年7月27日	葉山

発表者名	発表標題	
平野良憲	植物ホルモン受容体によるシグナル伝達制御の構造的基盤	
学会等名	発表年月日	発表場所
特定領域研究「生体超分子の構造形成と機能制御の原子機構」第5回ワークショップ	2009年7月27日	葉山

発表者名	発表標題	
森智行	+TIPs、EB1-CLASP複合体結晶構造解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
特定領域研究「生体超分子の構造形成と機能制御の原子機構」第5回ワークショップ	2009年7月27日	葉山

発表者名	発表標題	
箱嶋敏雄	ジベレリン受容体によるジベレリン誘導性DELLA認識	
学会等名	発表年月日	発表場所
2009年植物科学シンポジウム「ひき出そう植物科学の潜在力：日本発GM植物実現を目指して」	2009年12月1日	品川

発表者名	発表標題	
箱嶋敏雄	構造生物学の現代細胞生物学への展開	
学会等名	発表年月日	発表場所
特定領域研究「生体超分構造」第6回公開シンポジウム	2009年12月2日	豊中

発表者名	発表標題	
平野良憲	張力による細胞接着制御機構の解明に向けた $\alpha$ カテニンの構造研究	
学会等名	発表年月日	発表場所
特定領域研究「生体超分構造」第6回公開シンポジウム	2009年12月2日	豊中

発表者名	発表標題	
森智行	+TIPs、EB1-CLASP複合体結晶構造解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
特定領域研究「生体超分構造」第6回公開シンポジウム	2009年12月2日	豊中

発表者名	発表標 題		
寺脇慎一	Tiam1/2のPHCCExドメインによる新規な細胞膜認識機構の構造生物学研究		
学会等名	発表年月日	発表場 所	
特定領域研究「生体超分構造」第6回公開シンポジウム	2009年12月2日	豊中	

発表者名	発表標 題		
箱嶋敏雄	ジベレリン受容体のジベレリン識別とエフェクター認識の構造的基礎		
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 ワークショップ「翻訳後修飾・分解による細胞制御の構造生物学の最前線」	2009年12月10日	横浜	

発表者名	発表標 題		
森智行	+TIPs、EB1-CLASP複合体結晶構造解析		
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12日	横浜	

発表者名	発表標 題		
西村明幸	Structural basis of a novel targeting site for the specific inhibition of heterotrimeric G proteins		
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日	横浜	

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Irelp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11日	横浜	

発表者名	発表標 題		
佐藤明子	溶液NMR法によるRho-kinaseのスプリットPHドメインの高次構造解析		
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11日	横浜	

発表者名	発表標 題		
右田裕二	ヒトPCNA変異体を用いるFEN1の活性制御機構の解析		
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12日	横浜	

〔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。

--