

平成23年度科学研究費助成事業（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 研究活動スタート支援      4. 研究期間 平成23年度～平成24年度
5. 課題番号 

2	3	8	7	0	0	2	0
---	---	---	---	---	---	---	---
6. 研究課題名 オルガネラノックダウン法を契機としたオルガネラ量補償機構の解析

7. 研究代表者

研究者番号		研究代表者名		所属部局名	職名						
7	0	6	1	4	7	7	5	ヤナギタニ 柳谷	コウタ 耕太	バイオサイエンス研究科	特任助教

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。

本研究では、オートファジーを利用したオルガネラノックダウン法を開発し、真核細胞に備わる未知のオルガネラ量補償機構の解析を目的とする。平成23年度においては、オルガネラノックダウン法の開発を行った。オートファジーを用いたオルガネラノックダウン法においては、特定のオルガネラに局在化するオートファジー受容体の作製が必須となる。本研究では、オートファジー受容体の候補として p62 を用いることにした。p62 はサイトゾルに分布するタンパク質であることから、p62 をオルガネラのオートファジー受容体として用いるためには p62 を目的のオルガネラ膜上に集積する必要がある。この目的を実現するために、本研究では人工的にヘテロ二量体を形成するシステムを利用した。まずはじめに、ヒト肝ガン由来細胞株 HepG2 細胞由来の cDNA ライブラリーから p62 をクローニングした。その後、一方のヘテロ二量体化ドメインである DmrC ドメインとの融合遺伝子 DmrC-p62 を作製した。さらに、これを簡便に可視化するために、単量体緑色蛍光タンパク質である mEGFP を挿入した DmrC-mEGFP-p62 を構築した。次に、各オルガネラにこの DmrC-mEGFP-p62 をリクルートする p62 受容体として、それぞれのオルガネラ膜に局在化するタンパク質ともう一方のヘテロ二量体化ドメインである DmrA ドメインを融合したタンパク質をコードする遺伝子を構築した。小胞体、ゴルジ体、ミトコンドリアに局在化するタンパク質として Sec61beta、Giantin、Monoamine Oxidase A をヒト細胞由来の cDNA ライブラリーからクローニングし、DmrA との融合遺伝子を作製した。これらは可視化するために、mCherry を挿入してある。作製の完了した p62 を各オルガネラに集積させるシステムを利用し、平成24年度にはオルガネラノックダウンを行い、オルガネラ量補償システムを解析する。

10. キーワード

- |          |              |          |     |
|----------|--------------|----------|-----|
| (1)細胞生物学 | (2)バイオテクノロジー | (3)オルガネラ | (4) |
| (5)      | (6)          | (7)      | (8) |

11. 現在までの達成度

下欄には、交付申請書に記載した「研究の目的」の達成度について、以下の区分により自己点検による評価を行い、その理由を簡潔に記述すること。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。  
 <区分>①当初の計画以上に進展している。 ②おおむね順調に進展している。 ③やや遅れている。 ④遅れている。

(区分) ②おおむね順調に進展している。
(理由) 助成金を使用可能となったのが昨年秋からであることを考慮すると、23年度の計画であるオルガネラノックダウンシステムの構築は完了しており、ほぼ予定通り進展しているといえる。

12. 今後の研究の推進方策

本研究課題の今後の推進方策について簡潔に記述すること。研究計画の変更あるいは研究を遂行する上での問題点があれば、その対応策なども記述すること。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。

24年度はオルガネラノックダウン法が機能するか確認し、オルガネラ量補償機構が存在するのかを調べる。さらに、オルガネラ量補償機構を担う因子を探索する。
--

13. 研究発表（平成23年度の研究成果）

※ 「13. 研究発表」欄及び「14. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況」欄において記入欄が不足する場合には、適宜記入欄を挿入し、それによりページ数が増加した場合は、左端を糊付けすること。

【雑誌論文】 計（ 2 ）件      うち査読付論文 計（ 1 ）件

著者名	論文標題						
Shinya, S., Kadokura, H., Imagawa, Y., Inoue, M., Yanagitani, K., Kohno, K.,	Reconstitution and characterization of the unconventional splicing of XBP1u mRNA in vitro						
雑誌名	査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁		
Nucleic Acids Res	有	39	2	0	1	1	5245 -5254
掲載論文の DOI (デジタルオブジェクト識別子)							
10.1093/nar/gkr132							

著者名	論文標題						
柳谷耕太, 河野憲二	小胞体膜上で起こるスプライシングの洗練されたメカニズム						
雑誌名	査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁		
実験医学	無	29	2	0	1	1	1772 -1776
掲載論文の DOI (デジタルオブジェクト識別子)							
なし							

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		
掲載論文の DOI (デジタルオブジェクト識別子)							

【学会発表】計（ 3 ）件    うち招待講演 計（ 1 ）件

発表者名	発表標 題		
柳谷耕太	小胞体膜上で起こる mRNA スプライシングにおける翻訳停止反応の役割		
学会等名	発表年月日	発表場 所	
第63回日本細胞生物学会大会	2011年6月27日	札幌市	

発表者名	発表標 題		
Kota Yanagitani, Yukiko Yokota, Yukio Kimata, Hiroshi Kadokura, Kenji Kohno	Ribosomal Stalling Promotes mRNA Splicing on the Endoplasmic Reticulum		
学会等名	発表年月日	発表場 所	
第34回日本分子生物学会年会（招待講演）	2011年12月15日	横浜市	

発表者名	発表標 題		
門井浩二、柳谷耕太、河野憲二	哺乳動物細胞で機能する翻訳停止配列の開発と応用		
学会等名	発表年月日	発表場 所	
第34回日本分子生物学会年会	2011年12月15日	横浜市	

【図 書】 計（ 0 ）件

著者名	出版 社			
	書 名	発行年	総ページ数	

14. 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
				出願年月日	

15. 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。

--