

様 式 C - 7 - 1

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

新学術領域研究（研究領域提案型）

4. 補助事業期間

平成 22 年度～平成 26 年度

5. 課題番号

2 2 1 2 1 0 0 2

6. 研究課題

動物・植物細胞のシグナル検知と伝達の構造生物学

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
0 0 1 6 4 7 7 3	ハコシマ トシオ 箱嶋 敏雄	バイオサイエンス研究科	教授

8. 研究分担者

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名
7 0 3 4 6 3 1 0	ミシマ マサキ 三島 正規	首都大学東京・理工学研究科	准教授

9. 研究実績の概要

1. 動物細胞のシグナル検知と伝達制御
運動の方向決定に関与するmyosin-Xについて、積荷認識ドメイン（MyTH4-FERMドメイン）と積荷の一つであるDCCとの複合体の構造解析に成功し、結果を論文発表（EMBO J. 2011）した。又、細胞のメカノセンサーとしての α -cateninとvinculinとの張力依存的な特異的相互作用を説明可能な複合体の構造決定に成功した。

2. 植物細胞のシグナル検知と伝達制御
ストリゴラクトン（SL）の受容体候補であるD14の構造研究では、平成23年11月の結晶データ収集の結果、期待していたデータが得られなかったため、再度、高分解能結晶作成を行う必要が生じ、平成24年12月まで延長して実験を進めた。又、SL受容体候補類似タンパク質D14Lはカリキン（KAR）の受容体候補であることが最近示されたが、その構造解析に向けて調製を試みた。又、結晶化条件の改善の為に、ホルモンと受容体の相互作用を解析した。熱量計ITC200をフル稼働で使用し、SLのアゴニスト化合物であるGR24とGR5、またKARのKAR1との定量的な結合の強さを測定すると共に、複合体結晶作成を試みた。これらの実験で得た有望結晶で、SPRING-8でのX線強度データ収集を平成24年の春から夏に試みた。その結果、高分解能（1.5 ～1.2 Å）のX線強度データを複数の結晶から収集できた。そのデータの構造解析を試みた結果、D14とD14-PMSF（阻害剤）、D14Lの構造決定に成功し、その基本構造や活性部位の詳細を解明できた。一方、D14とGR24やGR5、D14LとKAR1との複合体と期待された結晶では、これらのホルモンアゴニストに相当する電子密度を同定することはできなかった。これらは、D14やD14Lの酵素としての活性によって分解した可能性が考えられた。この点は今後の課題となった。

10. キーワード

(1) 構造生物学

(2) 分子生物学

(3) 生化学

(4) タンパク質

(5) 相互作用

(6)

(7)

(8)

11. 現在までの達成度

(区分)(2) おおむね順調に進展している。

(理由)

本研究では、1. 動物細胞のシグナル検知と伝達制御と、2. 植物細胞のシグナル検知と伝達制御の研究を推進してきた。両研究課題においても、平成22年度と平成23年度の2年間で、約半数の構造決定の成功しており、予定よりも速いペースで研究が進んでいる。

12. 今後の研究の推進方策

(今後の推進方策)

概ね順調に進んでいるので、引き続き、これまで通りの体制、本研究の始動期に形成した体制である博士研究員1名、研究員3名、技術補佐員1名、ならびに連携研究者である助教1名と大学院生14名（博士課程3名、修士課程9名）、で推進していく。

13. 研究発表(平成23年度の研究成果)

〔雑誌論文〕 計(5)件 うち査読付論文 計(5)件

著 者 名		論 文 標 題 【掲載確定】						
Yoshinori Hirano		Structural basis of cargo recognition by the myosin-X MyTH4–FERM domain						
雑 誌 名		査読の有無	巻	発行年				最初と最後の頁
The EMBO Journal		有	30	2	0	1	1	2734-2747
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)								
10.1038/emboj.2011.177.								

著 者 名		論 文 標 題 【掲載確定】				
Kumiko Kawasaki		Insights into substrate recognition by the E. coli orf135 protein through its solution structure				
雑 誌 名		査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁
Biochem Biophys Res Commun.		有	420	2	0 1 2	263-268
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)						
10.1016/j.bbrc.2012.02.146. Epub 2012 Mar 5.						

著 者 名		論 文 標 題 【掲載確定】						
Kumiko Kawasaki		¹H, ¹³C and ¹⁵N NMR assignments of the Escherichia coli Orf135 protein.						
雑 誌 名		査読の有無	巻	発行年				最初と最後の頁
Biomol NMR Assign.		有	6	2	0	1	2	1-4
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)								
10.1007/s12104-011-9312-7. Epub 2011 May 7.								

著 者 名	論 文 標 題 【掲載確定】			
Teppei Ikeya	Exclusively NOESY-based automated NMR assignment and structure determination of proteins			
雑 誌 名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
J Biomol NMR	有	50	2 0 1 1	137-146
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)				
10.1007/s10858-011-9502-8. Epub 2011 Mar 30.				

著 者 名	論 文 標 題 【掲載確定】			
Jin Inoue	A mechanism for single-stranded DNA-binding protein (SSB) displacement from single-stranded DNA upon SSB-RecO interaction			
雑 誌 名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
J Biol Chem.	有	286	2 0 1 1	6720-6732
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)				
10.1074/jbc.M110.164210. Epub 2010 Dec 17.				

〔学会発表〕 計(24)件 うち招待講演 計(0)件

発 表 者 名	発 表 標 題 【発表確定】	
平野 良憲	Structural basis of cargo recognition by the myosin-X MyTH4-FERM domain	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
XXII Congress and General Assembly of the International Union of Crystallography	2011年08月22日	スペイン マドリッド

発 表 者 名	発 表 標 題 【発表確定】	
Ken Kitano	Structural study of Werner syndrome DNA helicase.	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
The EMBO meeting 2011	2011年09月10日	オーストリア ウィーン

発 表 者 名	発 表 標 題 【発表確定】	
森 智行	微小管 + 端集積因子、EB1-CLASPの複合体結晶構造解析/ The crystal structure of EB1-CLASP complex	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第11回日本蛋白質科学会年会	2011年06月07日	大阪府 吹田市

発 表 者 名	発 表 標 題 【発表確定】	
平野 良恵	Myosin-XのMyTH4-FERMドメインによる積み荷認識機構の構造的基盤/ Structural basis of cargo recognition by the myosin-X MyTH4-FERM domain	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第11回日本蛋白質科学会年会	2011年06月07日	大阪府 吹田市

発 表 者 名	発 表 標 題 【発表確定】	
金場 哲平	微小管ダイナミクスを制御する蛋白質群についての構造研究/ Structural studies of regulatory proteins for microtubule dynamics	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第11回日本蛋白質科学会年会	2011年06月08日	大阪府 吹田市

発 表 者 名	発 表 標 題 【発表確定】	
箱嶋 敏雄	PCNAのリングの内側に存在する酸性アミノ酸残基の機能解析/ Molecular analysis of acidic amino acid residues in the center hole of PCNA	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第11回日本蛋白質科学会年会	2011年06月09日	大阪府 吹田市

発 表 者 名	発 表 標 題 【発表確定】	
箱嶋 敏雄	タンパク質を加工する/ Modification of proteins for structural determination	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第11回日本蛋白質科学会年会	2011年06月09日	大阪府 吹田市

発 表 者 名	発 表 標 題 【発表確定】	
秋吉克昂	NMR法によるマルチドメインタンパク質Protein kinase Cの構場造解析の試み	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第11回日本蛋白質科学会年会	2011年06月08日	大阪府 吹田市

発 表 者 名	発 表 標 題 【発表確定】	
井上 仁	蛋白質間相互作用により生じる単鎖DNA 結合蛋白質 (SSB/ RPA) のssDNA からの解離の一般的機構	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第11回日本蛋白質科学会年会	2011年06月08日	大阪府 吹田市

発 表 者 名	発 表 標 題 【発表確定】	
三島正規	Molecular recognition of the C-terminal region of SMRT by SHARP and its dynamical aspect in transcriptional regulation	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第49回 日本生物物理学会年会	2011年09月16日	大阪府 吹田市

発表者名	発表標題【発表確定】	
Masaki Mishima	Structural basis for the transcriptional regulation by SHARP	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 4th Asia-Pacific NMR Symposium	2011年10月18日	中国 北京

発表者名	発表標題【発表確定】	
Masaki Mishima	Weak and transient interaction underlying the transcriptional corepressor SHARP/SMRT complex	
学会等名	発表年月日	発表場所
ISNMR2011	2011年11月17日	神奈川県 横浜市

発表者名	発表標題【発表確定】	
Teppei Kanaba	Autoinhibition and activation of end-binding 1 revealed by NMR	
学会等名	発表年月日	発表場所
ISNMR2011	2011年11月16日	神奈川県 横浜市

発表者名	発表標題【発表確定】	
Katsutaka Akiyoshi	An attempt to obtain the structural insight of the multidomain protein PKC by solution NMR	
学会等名	発表年月日	発表場所
ISNMR2011	2011年11月16日	神奈川県 横浜市

発 表 者 名	発 表 標 題 【発表確定】	
Ayaho Kobayashi	Structural and dynamical studies of transcriptional corepressor SHARP/SMRT complex	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
ISNMR2011	2011年11月16日	神奈川県 横浜市

発 表 者 名	発 表 標 題 【発表確定】	
Kouhei Sakaki1	Structural study of ternary complex formation of IRF4 using NMR	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
ISNMR2011	2011年11月16日	神奈川県 横浜市

発 表 者 名	発 表 標 題 【発表確定】	
Kunimichi Saeki	Structural studies of tubulin tyrosine ligase 1	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
ISNMR2011	2011年11月16日	神奈川県 横浜市

発 表 者 名	発 表 標 題 【発表確定】	
Jumpei Hamatsu	Structural and dynamic studies of proteins in living cells by in-cell NMR spectroscopy	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
ISNMR2011	2011年11月16日	神奈川県 横浜市

発 表 者 名	発 表 標 題 【発表確定】	
Saori Hosoya	Structure determination of the protein G B1 domain in living cells by in-cell NMR spectroscopy	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
ISNMR2011	2011年11月16日	神奈川県 横浜市

発 表 者 名	発 表 標 題 【発表確定】	
Kaori Onishi	Heteronuclear multidimensional NMR spectroscopy of proteins in human cultured cells	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
ISNMR2011	2011年11月16日	神奈川県 横浜市

発 表 者 名	発 表 標 題 【発表確定】	
Teppei Ikeya	NMR structure refinement by torsion angle molecular dynamics simulation using a physical force field in CYANA	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
ISNMR2011	2011年11月16日	神奈川県 横浜市

発 表 者 名	発 表 標 題 【発表確定】	
濱津 順平	In-cell NMR による細胞内蛋白質の分子動態解析	
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14日	神奈川県 横浜市

発 表 者 名	発 表 標 題 【発表確定】		
Saori Hosoya	Structure determination of protein G B1 domain in living cells by in-cell NMR spectroscopy		
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14日	神奈川県 横浜市	

発 表 者 名	発 表 標 題 【発表確定】		
Katsutaka Akiyoshi	溶液NMR法を用いた全長Protein kinase Cの構造決定の試み		
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14日	神奈川県 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

(新学術領域研究) 構造細胞生物学—細胞シグナリング複合体によるシグナル検知・伝達・応答の構造的基礎
<http://convallaria.pharm.hokudai.ac.jp/scb/>