

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 特別研究員奨励費 4. 研究期間 平成22年度～平成23年度

5. 課題番号

	2	2	・	9	1	1	9
--	---	---	---	---	---	---	---

6. 研究課題名 酵母ユビキチンリガーゼ Rsp5 による異常タンパク質の分解とその制御機構の解明

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
	ササキ トシヤ 佐々木 俊弥	バイオサイエンス研究科	特別研究員 (DC2)

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。

出芽酵母において高濃度エタノール添加後にGap1がエンドサイトーシスを起こす現象をこれまでに見出した。エタノールをストレスとしてセンサーで感知しているのか、Gap1のアンフォールディングそのものを認識しているのか、この現象の引き金を明らかにすべく、Gap1温度感受性変異体の取得を目指した。もし、変性を認識するのであれば、高温時にアンフォールディングしたGap1をRsp5がユビキチン化し、エンドサイトーシスを起こすと考えられた。このスクリーニングでは、高温でGap1が変性した場合のみ生育するように、プロリン毒性アナログ培地によるポジティブセレクションを行ったが、残念ながら、本年度での取得には至らなかった。

一方、Rsp5のリン酸化については、これまで用いていた抗リン酸化Rsp5血清によるリン酸化Rsp5の検出感度を上げるため、抗体のアフィニティー精製を行った。その結果、リン酸化Rsp5の検出感度が大幅に増加したが、資化しにくい窒素源を用いて培養した場合、リン酸化されないはずのRsp5ミュータント（T357A-Rsp5）でもバンドが検出された。このことから、おそらく予想していたThr357以外にも、Rsp5内に保存された同様のドメイン内のThrがリン酸化されているのではないかと考えられた。

Gap1認識を仲介するアダプターであるBul1/2とT357A-Rsp5の結合を共免疫沈降法で検出した。T357Aのミュータントではアダプターとの結合能が上がると予想しており、Bu12に関してはその傾向が見られた。しかし、強制発現プロモーターを用いているにも関わらず、BU11/2の発現量が一定にはならず、特に357A-Rsp5発現株においては、野生株よりも発現量が低かった。これらのことから、当初考えていた単純では描ききれないファクターが残されていると考えられる。

Rsp5のリン酸化に関わるキナーゼ・フォスファターゼを当初の予定通りスクリーニングした。その中からフォスファターゼの候補としてSit4が見出された。

10. キーワード

- | | | | |
|-------------|---------------|------------|-------------|
| (1) ユビキチン | (2) Rsp5 | (3) パーミアアゼ | (4) 異常タンパク質 |
| (5) タンパク質分解 | (6) エンドサイトーシス | (7) ストレス | (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)
(理由)

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。

--

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(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
掲載論文の DOI (デジタルオブジェクト識別子)						

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)						

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（0）件

発表者名	発表標題		
佐々木俊弥	Rsp5-mediated plasma membrane protein quality control under stress conditions.		
学会等名	発表年月日	発表場所	
29th International Specialized Symposium on Yeasts	2011年8月30日	Guadalajara, Mexico	

発表者名	発表標題		
佐々木俊弥	出芽酵母のエタノールストレス下における原形質膜タンパク質分解機構の解析		
学会等名	発表年月日	発表場所	
酵母遺伝学フォーラム第44回研究報告会	2011年9月6日	九州大学（福岡）	

発表者名	発表標題		
佐々木俊弥	The yeast ubiquitin ligase Rsp5 activity is regulated through phosphorylation of a highly conserved Thr357 in the Nedd4 family.		
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16日	パシフィコ横浜（横浜）	

〔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。

なし
