

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 挑戦的萌芽研究 4. 研究期間 平成22年度～平成23年度

5. 課題番号

2	2	6	5	0	0	7	9
---	---	---	---	---	---	---	---

6. 研究課題名 二分子蛍光補完による複数サイトカインシグナルの入力部位同時検出法の開発

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
80302892	ナカシマ キンイチ 中島 欽一	バイオサイエンス研究科	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

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。

申請者は、IL-6ファミリーサイトカイン（IL6-FC）群及び骨形成因子群が相乗的に作用して神経幹細胞のアストロサイト分化を誘導することを明らかにした。しかし生体内において、神経幹細胞が実際にこれらアストロサイト誘導性サイトカインのシグナルを受け取っているのか、さらに細胞のどの部分で受け取っているかについては不明のままである。そこで本研究では、サイトカインシグナル入力の際に、受容体膜タンパク質と転写因子が会合することを利用したこれまでにない二分子蛍光補完（BiFC）法により、異なるサイトカインシグナルの入力同時観察、及びその入力部位同定を行う技術を開発する。さらにこの結果と申請者らのこれまでの成果を統合して、アストロサイト分化能獲得から分化まで、その一連の過程を説明する概念の提示を目指す。

予備の実験より、軟膜細胞がIL6-FC発現細胞であることを同定している。そこで、生体内でIL6-FCのシグナル入力を観察するため、BiFC法の開発を試みた。IL6-FCは、膜タンパク質gp130を介してJAKチロシンキナーゼを活性化する。JAKはgp130の細胞内領域をリン酸化し、STAT3はそのリン酸化チロシン残基に会合する。本研究ではこの会合を利用して、二分子蛍光補完（BiFC）法によりシグナル受領の検出とその細胞部位を同定する。まず、gp130と緑色蛍光タンパク質Kusabira-Green（KG）のN末側約半分の融合タンパク質（gp130-NKG）及びSTAT3とKGのC末側約半分の融合タンパク質（STAT3-CKG）の発現コンストラクトを作成した。これは、細胞がシグナルを受け取り両者が結合した場合のみKGの立体構造が再構築され蛍光が観察されるという原理に基づいたものである。作成したコンストラクトを細胞に導入した結果、数種の組み合わせで蛍光を確認した。

10. キーワード

- | | | | |
|-------------|-------------|--------|------------|
| (1) 神経幹細胞 | (2) 二分子蛍光補完 | (3) 分化 | (4) サイトカイン |
| (5) アストロサイト | (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)
(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)					

〔学会発表〕 計(0)件 うち招待講演 計(0)件

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	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。

<http://bsw3.naist.jp/courses/courses203.html>

http://www.naist.jp/pressrelease/detail_j/topics/1290/