

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	7	0	3	5
---	---	---	---	---	---	---	---
6. 研究課題名 細胞内代謝ネットワークを理解するための細胞内 NAD⁺可視化技術開発
7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名				
5 0 3 9 3 8 1 0	<table border="1" style="display: inline-table; vertical-align: middle;"> <tr><td>なかはた</td><td>やすかず</td></tr> <tr><td>中畑</td><td>泰和</td></tr> </table>	なかはた	やすかず	中畑	泰和	バイオサイエンス研究科	助教
なかはた	やすかず						
中畑	泰和						

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。

老化や代謝に関わる制御因子として注目されている NAD⁺依存性脱アセチル化酵素 Sirtuin ファミリーの研究が近年急激な広がりを見せており、老化、代謝や概日時計の分子基盤を理解するためには、1細胞内での NAD⁺動態の時空間情報を知ることが重要になってくる。しかし従来の NAD⁺分析法では、細胞を破壊して組織抽出液中の NAD⁺を測定するため、個々の細胞の持つ時空間情報が失われてしまう。そこで本研究では、Fluorescent Resonance Energy Transfer (FRET) 法により細胞内 NAD⁺を可視化するための FRET プローブ開発を行った。昨年度までに、異なる作用機序により細胞内 NAD⁺量を減少させることが知られている薬剤 H₂O₂ と FK866 処理を行ったそれぞれ培養細胞で FRET が起こるプローブを見出した。今年度は、FRET プローブ精製標品を用いて、試験管内で NAD⁺および類似代謝物 (NADH、ニコチンアミドなど) に対する FRET プローブの特異性の検証を行った。まず FRET プローブ精製標品を得るため、大腸菌を用いたタンパク質精製を行った。精製条件を検討した結果、FRET プローブを可溶性画分に高純度で得ることに成功した。この精製標品を用いて in vitro で NAD⁺に対する特異性を検証したが、NAD⁺濃度によらず FRET が起こっていた。この結果は、すでに精製標品は NAD⁺と結合している可能性を示している。今後、NAD⁺と結合していない FRET プローブ精製の条件検討を行い、FRET プローブの NAD⁺特異性を検証し、細胞内 NAD⁺量を可視化する FRET プローブを完成させる。

10. キーワード

- | | | | |
|----------|----------------------|-------------|---------------|
| (1) FRET | (2) NAD ⁺ | (3) エネルギー代謝 | (4) ライブイメージング |
| (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)
(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（ 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。

なし
