

平成22年度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      4. 研究期間      平成22年度～平成26年度
5. 課題番号 

2	2	1	2	1	0	0	2
---	---	---	---	---	---	---	---
6. 研究課題名      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
00164773	箱嶋 敏雄	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
70346310	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

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。

**1. 動物細胞のシグナル検知と伝達制御：** 低分子量GTPaseであるRacのGEFとして細胞骨格系の制御を通して細胞運動を制御するタンパク質Tiam1については、活性化に必要な新たな膜・膜タンパク質相互作用ドメインであるPHCCExドメインの結晶構造解析を完成すると共にDCC等の認識部位を同定できた。また、運動の方向決定に関与するmyosin-Xについては、積荷認識ドメイン(MyTH4-FERMドメイン)の調製に成功して、構造解析のための結晶化実験に取りかかった。更に、細胞のメカノセンサーとしての□-cateninとvinculinとの張力依存的な特異的相互作用の調節機構を解明するために、種々のコンストラクトを検討して、試料調製を可能とした。これらを用いて、結晶化を試みる段階まで到達した。また、医学的に重要な三量体GTPaseの阻害剤複合体の構造を世界に先駆けて決定した。また、早老症原因タンパク質WRNの構造決定にも成功した。

Tiam1については平成22年の年末に、共同研究者から新たな知見(分子内相互作用による活性抑制の可能性)が提供されて、その検討のために必要なドメイン、特にN-末端の構造的に柔軟な領域やRas結合ドメインとPDZドメインを、年度を繰り越して試料調製を貫徹して、分子間・分子内相互作用解析の準備が整った。

**2. 植物細胞のシグナル検知と伝達制御：** DELLAタンパク質やその他のGRASドメインタンパク質の大腸菌での高い発現系構築に成功した。また、ストリゴラクトン受容体候補であるD14調製して結晶化に成功した。ホルモンと受容体の相互作用解析では、購入した熱量計ITC<sub>200</sub>をフル稼働で使用して、定量的に結合の強さを見積もった。更に、受容体候補類似タンパク質D14Lの調製については、年度を繰り越して試料の調製を貫徹した。

10. キーワード

- |            |                         |          |
|------------|-------------------------|----------|
| (1) 分子構造   | (2) シグナル伝達              | (3) 細胞骨格 |
| (4) Gタンパク質 | (5) unconventional ミオシン | (6) 密着結合 |
| (7) 植物ホルモン | (8) 受容体                 | (裏面に続く)  |

## 11. 研究発表（平成22年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計（ 13 ）件      うち査読付論文 計（ 13 ）件

著者名	論文標題						
S. Terawaki	The PHCCEx domain of Tiam1/2 is a novel protein- and membrane-binding module.						
雑誌名	査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁		
EMBO J.	有	29	2	0	1	0	236-250

著者名	論文標題						
K. Kitano	Structural Basis for DNA Strand Separation by the Unconventional Winged-Helix Domain of RecQ Helicase WRN.						
雑誌名	査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁		
Structure (Cell Press)	有	18	2	0	1	0	177-187

著者名	論文標題						
N. Shibata	Crystallization of the plant hormone receptors PYL9/RCAR1, PYL5/RCAR8, PYR1/RCAR11 in the presence of (+)-abscisic acid.						
雑誌名	査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁		
Acta Crystallogr.	有	F66	2	0	1	0	456-459

著者名	論文標題						
T. Kohno	Cloning and crystallization of human phosphodiesterase 12.						
雑誌名	査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁		
Acta Crystallogr.	有	F66	2	0	1	0	520-522

著者名	論文標題						
A. Nishimura	Structural basis for the specific inhibition of heterotrimeric G <sub>o</sub> protein by a small molecule.						
雑誌名	査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁		
Proc. Natl. Acad. Sci. USA	有	107	2	0	1	0	13666-13671

著者名	論文標題						
M. Mishima	Solution structure of the HRDC domain of human Bloom syndrome protein BLM.						
雑誌名	査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁		
J. Biochem.	有	154	2	0	1	0	517-525

著者名	論文標題						
Teppei Ikeya	NMR protein structure determination in living E. coli cells using nonlinear sampling						
雑誌名	査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁		
Nat Protoc.	有	5	2	0	1	0	1051-1060

著者名	論文標題						
Kyoko Furuita	Electrostatic interaction between oxysterol-binding protein and VAMP-associated protein A revealed by NMR and mutagenesis studies						
雑誌名	査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁		
Journal of Biological Chemistry	有	285	2	0	1	0	12961-12970

著者名	論文標題						
Y. 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		
EMBO J.	有	30	2	0	1	1	2734-2747

著者名	論文標題						
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

著者名	論文標題						
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	137-46

著者名	論文標題						
Kumiko Kawasaki	$^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ and $^{15}\text{N}$ 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

著者名	論文標題						
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	in Press	2	0	1	2	in Press

[学会発表] 計 ( 59 ) 件      うち招待講演 計 ( 1 ) 件

発表者名	発表標題		
宮崎 健介	溶液NMR法を用いたマルチドメイン蛋白質の構造解析の試み		
学会等名	発表年月日	発表場所	
第10回日本蛋白質科学会年会	2010年6月16日	北海道札幌市	

発表者名	発表標題		
佐伯 邦道	チューブリンチロシン化酵素の構造研究		
学会等名	発表年月日	発表場所	
第10回日本蛋白質科学会年会	2010年6月16日	北海道札幌市	

発表者名	発表標題		
金場 哲平	微小管制御蛋白質EB1の構造解析		
学会等名	発表年月日	発表場所	
第10回日本蛋白質科学会年会	2010年6月16日	北海道札幌市	

発表者名	発表標題		
三神 すずか	多次元NMR法による転写抑制因子SHARP/SMRT複合体の立体構造解析		
学会等名	発表年月日	発表場所	
第10回日本蛋白質科学会年会	2010年6月16日	北海道札幌市	

発表者名	発表標題	
Teppei Kanaba	NMR characterization of the regulation of microtubule dynamics by EB1	
学会等名	発表年月日	発表場所
Joint EUROMAR 2010 and 17th ISMAR Conference	2010年7月6日	イタリア フローレンス

発表者名	発表標題	
Ito, J	Structure and dynamics of proteins at work inside cells	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 24 <sup>th</sup> International Conference on Magnetic Resonance in Biological Systems	2010年8月23日	Cairns, Commonwealth in Australia

発表者名	発表標題	
J. E. Jakus	NMR studies of 56 kDa E. coli periplasmic nickel binding protein Nika	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 24 <sup>th</sup> International Conference on Magnetic Resonance in Biological Systems	2010年8月23日	Cairns, Commonwealth in Australia

発表者名	発表標題	
Y. Shigemitsu	Applications of nonlinear sampling scheme to 4D NOESY experiment.	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 24 <sup>th</sup> International Conference on Magnetic Resonance in Biological Systems	2010年8月23日	Cairns, Commonwealth in Australia

発表者名	発表標題	
K. Furuita	NMR and mutagenesis studies of the interaction of ER membrane protein VAP-A with intrinsically disordered protein OSBP	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 24 <sup>th</sup> International Conference on Magnetic Resonance in Biological Systems	2010年8月24日	Cairns, Commonwealth in Australia

発表者名	発表標題	
Kensuke Miyazaki	Structural analysis of multi-domain proteins by solution NMR	
学会等名	発表年月日	発表場所
日本生物物理学会第48回年会	2010年9月21日	宮城県仙台市

発表者名	発表標題	
Teppei Kanaba	Structural basis for the transcriptional repression mediated by SHARP/SMRT complex	
学会等名	発表年月日	発表場所
日本生物物理学会第48回年会	2010年9月22日	宮城県仙台市

発表者名	発表標題	
Suzuka Mikami	Structural basis for the transcriptional repression mediated by SHARP/SMRT complex	
学会等名	発表年月日	発表場所
日本生物物理学会第48回年会	2010年9月22日	宮城県仙台市

発表者名	発表標 題	
Kunimichi Saeki	Structural studies of tubulin tyrosine ligase using solution NMR spectroscopy	
学会等名	発表年月日	発表場所
日本生物物理学会第48回年会	2010年9月22日	宮城県仙台市

発表者名	発表標 題	
箱嶋 敏雄	植物ホルモン受容体の構造研究	
学会等名	発表年月日	発表場所
蛋白研セミナー	2010年10月21日	大阪府吹田市

発表者名	発表標 題	
三島 正規	過渡的に形成される立体構造の常磁性緩和効果による解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
第49回NMR討論会	2010年11月15日	東京都江戸川区

発表者名	発表標 題	
三神 すずか	転写抑制コファクターSHARP/SMRT 複合体の試料調製及び構造解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
第49回NMR討論会	2010年11月15日	東京都江戸川区

発表者名	発表標 題	
佐伯 邦道	溶液NMR を用いた、ヒトチューブリンチロシン化酵素の構造解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
第49回NMR討論会	2010年11月17日	東京都江戸川区

発表者名	発表標 題	
金場 哲平	EB1 による微小管ダイナミクス制御機構についての構造研究	
学会等名	発表年月日	発表場所
第49回NMR討論会	2010年11月17日	東京都江戸川区

発表者名	発表標 題	
川崎 久美子	溶液NMR 法によるMBF1/Jun/Fos/DNA 転写因子複合体の構造解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
第49回NMR討論会	2010年11月15日	東京都江戸川区

発表者名	発表標 題	
宮崎 健介	溶液NMR 法によるマルチドメイン蛋白質の構造決定の試み	
学会等名	発表年月日	発表場所
第49回NMR討論会	2010年11月17日	東京都江戸川区

発表者名	発表標 題	
池谷鉄兵	FLYAによる最少スペクトルデータセットを用いた自動構造解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
第49回NMR討論会	2010年11月17日	東京都江戸川区

発表者名	発表標題	
重光佳基	Nonlinear samplingと3D MaxEntを用いた迅速な4D NOESY測定の有用性の検証	
学会等名	発表年月日	発表場所
第49回NMR討論会	2010年11月15日	東京都江戸川区

発表者名	発表標題	
花島知美	In-cell NMR法を用いた生細胞内におけるプロテインG B1ドメインの高次構造解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
第49回NMR討論会	2010年11月17日	東京都江戸川区

発表者名	発表標題	
大西香穂里	NMRを用いた蛋白質の立体構造解析における非線形サンプリングの有用性の検証	
学会等名	発表年月日	発表場所
第49回NMR討論会	2010年11月17日	東京都江戸川区

発表者名	発表標題	
細谷沙織	In-cell NMRを用いた生細胞内におけるカルモジュリンN末端ドメインの高次構造解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
第49回NMR討論会	2010年11月15日	東京都江戸川区

発表者名	発表標題	
濱津順平	In-cell NMRによる高度好熱菌TTHA1718蛋白質の生細胞動態解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
第49回NMR討論会	2010年11月15日	東京都江戸川区

発表者名	発表標題	
Joanna Jakus	NMR studies of 56 kDa <i>E. coli</i> nickel binding protein NikA	
学会等名	発表年月日	発表場所
第49回NMR討論会	2010年11月17日	東京都江戸川区

発表者名	発表標題	
三神 すずか	転写抑制コファクターSHARP/SMRT複合体の構造解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
第33回日本分子生物学会年会	2010年12月7日	兵庫県神戸市

発表者名	発表標題	
佐伯 邦道	溶液NMRを用いた、人チューブリンチロシン化酵素の構造研究	
学会等名	発表年月日	発表場所
第33回日本分子生物学会年会	2010年12月7日	兵庫県神戸市

発表者名	発表標題	
大西香穂里	NMRを用いた蛋白質の立体構造解析における非線形サンプリングの有用性の検証	
学会等名	発表年月日	発表場所
第33回日本分子生物学会年会	2010年12月8日	兵庫県神戸市

発表者名	発表標題	
濱津順平	In-cell NMRによるTTHA1718蛋白質の生細胞内分子動態解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
第33回日本分子生物学会年会	2010年12月8日	兵庫県神戸市

発表者名	発表標題	
花島知美	In-cell NMRを用いた生細胞内におけるプロテインG B1ドメインの高次構造解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
第33回日本分子生物学会年会	2010年12月8日	兵庫県神戸市

発表者名	発表標題	
井上仁	ssDNAでのSSB置換におけるSSB-蛋白質相互作用の役割	
学会等名	発表年月日	発表場所
第33回日本分子生物学会年会	2010年12月9日	兵庫県神戸市

発表者名	発表標題	
宮崎 健介	溶液NMR法によるマルチドメイン蛋白質の構造解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
第33回日本分子生物学会年会	2010年12月8日	兵庫県神戸市

発表者名	発表標題	
箱嶋 敏雄	構造生物学における第三の波	
学会等名	発表年月日	発表場所
第33回日本分子生物学会年会 ワークショップ「構造細胞生物学の新展開」	2010年12月10日	兵庫県神戸市

発表者名	発表標題	
北野 健	タンパク質のかたちから探る病気のしくみ	
学会等名	発表年月日	発表場所
奈良先端大バイオサイエンス研究科成果公開発表会	2011年2月5日	大阪府大阪市

発表者名	発表標題	
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6月7日	大阪府吹田市

発表者名	発表標題	
平野 良憲	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6月7日	大阪府吹田市

発表者名	発表標題	
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6月8日	大阪府吹田市

発表者名	発表標題	
諏訪 喜昭	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6月8日	大阪府吹田市

発表者名	発表標題	
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6月8日	大阪府吹田市

発表者名	発表標題	
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6月8日	大阪府吹田市

発表者名	発表標題	
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 「複合体構造研究のひと工夫」	ワークショップ 2011年6月9日	大阪府吹田市

発表者名	発表標題	
箱嶋 敏雄	複合体構造研究のひと工夫/ Technical tips for solving problems in structural studies of protein complexes	
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 「複合体構造研究のひと工夫」	ワークショップ 2011年6月9日	大阪府吹田市

発表者名	発表標題	
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9月16日	兵庫県姫路市



発表者名	発表標題	
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	Beijing , China

発表者名	発表標題	
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	
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-18日 (ホスター発表 複数日)	神奈川県横浜市

発表者名	発表標題	
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-18日 (ホスター発表 複数日)	神奈川県横浜市

発表者名	発表標題	
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-18日 (ホスター発表 複数日)	神奈川県横浜市

発表者名	発表標題	
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-18日 (ホスター発表 複数日)	神奈川県横浜市

発表者名	発表標題	
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-18日 (ホスター発表 複数日)	神奈川県横浜市

発表者名	発表標題	
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-18日 (ホスター発表 複数日)	神奈川県横浜市

発表者名	発表標題		
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-18日 (ポスター発表 複数日)	神奈川県横浜市	

発表者名	発表標題		
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-18日 (ポスター発表 複数日)	神奈川県横浜市	

発表者名	発表標題		
Teppey 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-18日 (ポスター発表 複数日)	神奈川県横浜市	

発表者名	発表標題		
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		
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		
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

12. 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

13. 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。

--