

平成23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23年度～平成24年度
5. 課題番号

2	3	1	2	1	5	2	2
---	---	---	---	---	---	---	---
6. 研究課題名 Gタンパク質シグナル複体の解析

7. 研究代表者

研究者番号		研究代表者名		所属部局名	職名						
1	0	1	8	3	0	0	5	イトウ 伊東	ヒロシ 広	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。

Gタンパク質シグナルは脳神経系、循環器系など数多くの生体調節システムにおいて働く重要な情報伝達系である。Gタンパク質共役受容体（GPCR）を標的とした薬剤が世界中で使用され、このシグナル伝達系の構成因子をターゲットとした新しい薬剤の開発が望まれている。本研究では、新たなGタンパク質シグナル複体の同定、およびその複体の構造と機能を明らかにして、創薬研究の基盤を築くことを目的としている。本年度、以下の成果が得られた。リガンド不明であるオーファンGPCRに属するGPR56, Latrophilin1, LGR5に対する抗体の作成を行った。マウスGPR56の細胞外ドメイン（ECD）を抗原としてラットに免疫して、いくつかのハイブリドーマを得ることに成功した。ウエスタンや免疫染色に使用可能な抗体が得られたが、GPR56の機能に影響を与える抗体は未だ得られていないので、さらなるハイブリドーマのスクリーニングを行っている。一方、ヒトGPR56に関してアゴニストのように受容体を活性化するモノクローナル抗体が2種類得られた。また抗体と受容体細胞外ドメインの複体の構造解析を行うために必要な量を得るためハイブリドーマの培養条件や精製法を検討して、一つの抗体においてミリグラム単位での収量が実現した。Latrophilin1ECDに関して発現用バキュロウイルスが得られ精製条件の検討を、LGR5に関してLGR5ECDをマウスに免疫してELISAで陽性を示すクローンをいくつか得る段階にまで進んでいる。一方、Gタンパク質と相互作用してGタンパク質シグナルを制御するRic-8に関してRic-8AおよびRic-8Bを過剰発現、ノックダウンできるアデノウイルスの作成に成功し、神経前駆細胞の増殖、分化、遊走にRic-8A/Bが関与していることが明らかとなった。またGαsのユビキチン化を触媒するE3 ligaseの探索を250種類のRing fingerモチーフを持つ候補分子とAlphaScreenという高感度蛍光相互作用解析系を用いて行い30種類の候補分子を見出した。今後、新たな生理機能を持ったGタンパク質複体が明らかになる可能性が示された。

10. キーワード

- (1) シグナル伝達 (2) Gタンパク質複体 (3) ユビキチン化 (4)
- (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) ②おおむね順調に進展している。
(理由) ほぼ予定通りに進んでおり、次年度のさらなる発展が期待されます。

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。

E3 ligase に特徴的な Ring finger モチーフを持ち G タンパク質 α サブユニット Gas と相互作用する可能性のある候補分子が 30 種類見つかった。複数の E3 ligase によって Gas がユビキチン化される可能性、あるいは Gas の下流で働く新たなシグナル伝達分子の可能性が出てきた。今後、個々の候補分子の機能解析により大きな発展に結びつく予想以上の結果が得られ、大きな発展に結びつく可能性が見出された。
--

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 (1) 件 うち査読付論文 計 (1) 件

著者名	論文標題					
Toriyama M., et al.	Phosphorylation of doublecortin by protein kinase A orchestrates microtubule and actin dynamics to promote neuronal progenitor cell migration					
雑誌名	査読の有無	巻	発行年			最初と最後の頁
J. Biol. Chem.	有	287	2	0	1	2
掲載論文の DOI (デジタルオブジェクト識別子)						
DOI 10.1074/jbc.M111.316307						

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(5)件 うち招待講演 計(1)件

発表者名	発表標 題		
鳥山 真奈美	Doublecortin orchestrates microtubule and actin dynamics to promote neuronal progenitor cell migration in a manner dependent on phosphorylation by PKA		
学会等名	発表年月日	発表場 所	
2011 Annual meeting of American Society for Cell Biology	2011年12月4日	デンバー、米国	

発表者名	発表標 題		
Riris Jenie	Involvement of Ric-8 in the Gαq-induced suppression of Gs signaling		
学会等名	発表年月日	発表場 所	
第34回 日本分子生物学会	2011年12月4日	横浜市	

発表者名	発表標 題		
高見 健太	Analysis of non-receptor type of G protein regulator Ric-8 involved in Drosophila gastrulation		
学会等名	発表年月日	発表場 所	
第34回 日本分子生物学会	2011年12月4日	横浜市	

発表者名	発表標 題		
伊東 広	New insight into the regulatory mechanism of G protein signaling		
学会等名	発表年月日	発表場 所	
第84回 日本生化学会	2011年9月22日	京都市	

発表者名	発表標 題		
鳥山真奈美	微小管結合タンパク質doublecortinのPKAによるリン酸化を介した新規アクチン骨格制御		
学会等名	発表年月日	発表場 所	
第84回 日本生化学会	2011年9月24日	京都市	

〔図 書〕 計(1)件

著者名	出版 社				
Daisuke Urano	Springer				
書 名			発行年	総ページ数	
Encyclopedia of Signaling Molecules			2 0 1 2	630	

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/itoh/>