

様 式 F - 7 - 1

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）実施状況報告書（研究実施状況報告書）（平成 2 5 年度）

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. 補助事業期間 平成 2 5 年度 ~ 平成 2 6 年度

5. 課題番号

2	5	6	5	0	0	6	8
---	---	---	---	---	---	---	---

6. 研究課題名 新たな蛋白質間相互作用の発見を目指す共局在オーム解析法の確立

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
6 0 2 6 3 4 4 8	キマタ ユキオ 木俣 行雄	バイオサイエンス研究科	准教授

8. 研究分担者

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

出芽酵母では 1990 年代に全ゲノム配列の解読が終了しており、約 6000 個の ORF がタンパク質をコードするであろうと予測されている。そして、それらの ORF に GFP タグを挿入し、それぞれのタンパク質の局在を網羅的に調べるといったプロジェクトも進められている (Huh et al., "Global analysis of protein localization in budding yeast." Nature Vol.425 686-691 (2003))。よって、多くのタンパク質の局在はいちおうは決定されているものの、例えば特定のオルガネラ（あるいはサイトソル）に局在するが「ムラ」があるタンパク質、あるいは、実体が全く不明な部位に局在するタンパク質も数多いことが分かっている。本研究では、任意の 2 つのタンパク質の局在を網羅的に検討することを目指す「共局在オーム」解析の確立を目指す。それによって、新しい細胞内区画を発見でき、さらには、タンパク質相互作用を見つけ出すことができると期待している。そこで本研究ではまず、汎用性の高い DNA コンストラクトを用いた遺伝子置換法によって、GFP タグ付き ORF 株の GFP タグを mCherry タグへと置換する手法を作り上げる必要がある。それが完成したら次に、数多くの GFP タグ付き ORF 株の GFP タグを mCherry タグへと置換し、菌株の交配により異なる ORF がそれぞれ GFP タグと mCherry タグ標識された株を作り出すことが可能となる。当該年度においては、GFP タグ付き ORF を mCherry タグへと置換する DNA コンストラクトを作製することができた。

10. キーワード

(1) タンパク質局在	(2)	(3)	(4)
(5)	(6)	(7)	(8)

11. 現在までの達成度

(区分)(3) やや遅れている。

(理由)

GFPタグをmCherryタグに置換するDNAコンストラクトの作製において、当初に設計したものが期待通りに機能しなかった(ゲノムへの導入効率が低かった)。よって、新しいDNAコンストラクト複数個、設計および作製する必要があり、当初の計画よりも研究の進行が遅れることとなった。また、GFPタグ付きORF株の蛍光像をあらかじめ多数観察しておく計画であったが、それに用いる高解像度顕微鏡が研究期間に納入されるのが遅く(2013年12月)、これも研究が遅れる要因となった。

12. 今後の研究の推進方策 等

(今後の推進方策)

当該年度に作製したDNAコンストラクトを用い、小胞体局在とされている約200種類のタンパク質について、共局在オーム解析を進めたい。具体的には、まず、GFPタグ付きORF株(小胞体局在タンパク質にGFPタグがついたものを発現している)のGFPタグをmCherryタグに置換する。そして、GFPタグ付きORF株とmCherryタグ付きORF株を交配後に減数分裂に供し、異なるORFがそれぞれGFPタグとmCherryタグ標識された株が取得でき次第、順次、高解像度顕微鏡にて観察に供したい。

(次年度使用額が生じた理由と使用計画)

(理由)

(使用計画)

13. 研究発表(平成25年度の研究成果)

(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

--