

平成25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 特別研究員奨励費 4. 研究期間 平成23年度～平成25年度

5. 課題番号 

2	3	・	4	0	0	4	2
---	---	---	---	---	---	---	---

6. 研究課題名 多様な微小管制御の構造生物学的アプローチ

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
	ミシマ (マエサキ) リョウコ 三島 (前崎) 綾子	バイオサイエンス研究科	特別研究員 (RPD)

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。

1, TTLの立体構造解析  
 昨年度までに、TTLの立体構造解析に向けて、TTLのコンストラクトの最適化を行い、NMR測定で良好な結果が得られるコンストラクトを作成した。このコンストラクトを用いて、発現、精製を行うことにより、NMR測定サンプルを得ることができた。このサンプルを用いてTTLの活性に必要なマグネシウム、基質であるチロシンの相互作用が検出できている。また精製サンプルを用いて、現在、NMRによる動的な構造解析を進めている。

2, Tubulinの発現系の構築  
 $\alpha$ -tubulin と  $\beta$ -tubulin を共発現させることにより、大腸菌でのTubulinの発現を試みた。発現過程でのtubulinのアセチル化や発現条件、大腸菌の破碎条件などを検討して、高純度、高収量でtubulinを精製できるよう改善を行っている。

3, タンパク質の発現条件の改善  
 カイコ（幼虫）によるタンパク質の大量生産は、細胞培養、ウイルス作成、タイター測定などの必要がなく、発現系の構築から組み換えタンパク質の抽出まで二週間程度で完了することが利点である。この、カイコを用いたタンパク質の発現系を用いて、大腸菌では発現が困難な活性型蛋白質を高発現での発現、精製に成功した。この結果については、現在論文作成中である。

4, SAHRP/SMRT複合体の立体構造解析  
 昨年度までに、転写抑制共役因子SHARP/SMRT複合体の形成がcasein kinase2によるリン酸化によって制御されることを発見し、SAHRP/SMRT複合体の立体構造を決定した。これらの結果をまとめ、論文を発表した。

10. キーワード

- (1) 微小管制御蛋白質 (2) NMR (3)  $\alpha,\beta$ -tubulin (4) 複合体  
 (5) 動的構造解析 (6) (7)  
 (8)

(注)・印刷に当たっては、A4判（縦長）・両面印刷し、左端を糊付けすること。

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) 本研究課題は、平成 25 年度が最終年度の為、記入しない。

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。

本研究課題は、平成 25 年度が最終年度の為、記入しない。
-------------------------------

13. 研究発表（平成 25 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				
Mikami S, Kanaba T, Takizawa N, Kobayashi A, <b>Maesaki R</b> , Fujiwara T, Ito Y, Mishima M.	Structural Insights into the Recruitment of SMRT by the Corepressor SHARP under Phosphorylative Regulation.				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁
<i>Structure</i>	有	22	2	014	35-46
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)					

(注)・印刷に当たっては、A4判(縦長)・両面印刷し、左端を糊付けすること。

【学会発表】計（ 2 ）件    うち招待講演 計（ 0 ）件

発表者名	発表標題		
金場哲平、秋吉克昂、前崎綾子、 宮崎健介、伊藤隆、三島正規	NMRを用いた溶液中のマルチドメインタンパク質PKCの構造解析の試み		
学会等名	発表年月日	発表場所	
第13回 日本蛋白質科学会年会（ポスター発表）	2013年6月14日	とりぎん文化会館（鳥取）	

発表者名	発表標題		
金場哲平、矢巻菜央、秋吉克昂、 前崎綾子、宮崎健介、伊藤隆、三島 正規	マルチドメイン蛋白質 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52回 NMR 討論会（ポスター発表）	2013年11月12日	石川県立音楽堂	

【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。

--

(注)・印刷に当たっては、A4判（縦長）・両面印刷し、左端を糊付けすること。