

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25年度～平成27年度

5. 課題番号

2	5	・	1	0	0	5	7
---	---	---	---	---	---	---	---

6. 研究課題名 細胞間接着構造の極性形成を開始させる新規タンパク質相互作用の構造生物学的研究

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
シバハラ 柴原	タケノリ 豪了	バイオサイエンス研究科	特別研究員 (DC1)

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。

本年度は、 α -catenin の D1 ドメイン単独での結晶化スクリーニングを実施した。その結果、 α -catenin の単体結晶を得ることができ、結晶化条件の精密化とクライオ条件の検討を行い、X線回折実験による分解能 2.5Å での回折データを取得した。分子置換法による位相決定を行い、 α -catenin の D1 ドメイン単独での三次元構造を X線結晶構造解析法で決定した。結晶構造の決定により、三次元構造に基づいて調製した変異体を用いて in vitro ならびに in vivo における機能解析を行うことができるようになった。

これまでに、 α -catenin にはモノマーとダイマーの会合状態が存在することが知られており、それぞれの会合状態で機能が異なることが示唆されている。モノマー状態の α -catenin は β -catenin-cadherin と相互作用して、リンカータンパク質 (vinculin, EPLIN, α -actinin, 1-afadin, ZO-1 等) を介してアクチンと相互作用すると考えられている。ダイマー状態の α -catenin はアクチンと直接相互作用して、アクチンのバンドル化を促進するとともに Arp2/3 や WASp を介したアクチンの枝分かれや重合を阻害すると考えられている。このように、会合状態での役割の違いが示唆されているにも関わらず、会合状態の平衡を制御する分子機構は詳細に理解されていなかった。結晶構造に基づいて調製した変異体による生化学的・生物物理学的な実験により、我々は α -catenin の会合状態に重量なアミノ酸残基を特定して、どのような構造変化を伴って α -catenin がホモ二量体または β -catenin とのヘテロ二量体を形成するののかについても議論できるデータを得ている。現在は、そのデータを Protein Data Bank に登録して、論文として発表する準備をしている。

10. キーワード

- (1) 細胞接着タンパク質 (2) X線結晶構造解析法 (3) (4)
 (5) (6) (7)

(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。

(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
(理由) 目的とするタンパク質の1つであるα-catenin の単体構造を原子レベルで解明した。変異体を用いた生化学的・生物物理学的実験からも、構造機能相関における興味深いデータを取得している。また、目的とするタンパク質複合体についても結晶を得ることができており、現在は良質なX線回折データを得るために研究を進めている。

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。

α-catenin の単体構造はタンパク質や核酸の立体構造を管理・保存している国際的なデータベースである Protein Data Bank に登録を行い、これまでに収集したデータは論文として発表するために準備を進めている。 目的とするタンパク質複合体については、相互作用領域を特定することができた。また、相互作用が確認できた領域について結晶化スクリーニングを行った結果、複合体のタンパク質結晶を得ることができた。X線回折実験により、これまでに分解能 6Å の回折データを取得している。今後は分解能を改善するために、結晶化条件の精密化とクライオ条件の検討を行う。分解能の改善が難航する場合、相互作用が確認できている異なる領域についても結晶化スクリーニングを試みる予定である。
--

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 (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)					

(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（ 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。

--