

様 式 C - 7 - 1

平成 26 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 基盤研究(A) (一般) 4. 研究期間 平成 26 年度 ~ 平成 28 年度
5. 課題番号

2	6	2	5	1	0	0	6
---	---	---	---	---	---	---	---
6. 研究課題名 細胞移動の動力クラッチ分子複合体の構造と動作原理

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
0 0 1 6 4 7 7 3	ハコシマ トシオ 箱嶋 敏雄	バイオサイエンス研究科	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
2 0 2 2 3 2 1 6	イナガキ ナオユキ 稲垣 直之	バイオサイエンス研究科	教授

9. 研究実績の概要

本年度は、shootin1、cortactin、L1、KIF20Bの組み換えタンパク質の大量調製と相互作用解析による相互作用ドメインのマッピングと、それらドメインの組み換えタンパク質の大量調製を完成して結晶化を始めた（箱嶋グループ）。また、相互作用領域の *in vivo* の機能・重要性を細胞レベルで解析するための準備も開始した（稲垣グループ）。本丸であるshootin1は、種々の発現系の検討の結果、全長タンパク質を精製できる系を効率化するとともに、この系で精製した全長タンパク質を用いて、ドメインマッピングや相互作用解析を進めた。その結果、野生型の全長タンパク質は「OFF」状態であり、L1やcortactinへの結合親和性が弱く、構造的には「閉じた」状態にあることが考えられた（作業仮説1）。一方、cortactinやL1への強い結合活性をもつ「ON」状態のshootin1は、2か所のリン酸化部位（ヒトではSer101とSer249）をGluに置換した疑似リン酸化型の全長タンパク質で調製可能であり、この活性型のshootin1を用いたドメインのマッピングも進めた。その結果、ドメイン分割した多くのタンパク質試料は沈殿や分解を起こすことが判明したので、研究期間を延長（繰り越し）して、実験を続けた。種々のコンストラクトを試した結果、N-末端側の複数のコンストラクトでタンパク質試料に調整が可能となった。一方、C-末端側には、アミノ酸配列からの予測通り、天然変性状態の領域が続いており、安定なドメイン（あるいは領域）の同定には至らなかった。

10. キーワード

- | | | | |
|-----------|-----------|-----------|-----------|
| (1) 構造生物学 | (2) 生化学 | (3) 細胞生物学 | (4) 分子生物学 |
| (5) 生物物理学 | (6) タンパク質 | (7) 相互作用 | (8) |

11. 現在までの進捗状況

(区分)(3) やや遅れている。

(理由)

本研究の対象となっているshootin1やcortactinの組み換えタンパク質の調製は、当初予想していたよりもはるかに困難なものであることが判明した。従って、当初計画に比べた全体としての研究の達成度は不十分なものとなっている。一方で、N-末端ドメイン等の困難なタンパク質試料調製を克服して、一定の試料が得られるようになったことは、今後の解析に希望ができた。

12. 今後の研究の推進方策

(今後の推進方策)

本年度に調製可能となったshootin1のN-末端ドメインについて、タンパク質物性や相互作用解析を進めていく(箱嶋グループ)。また、shootin1等の輸送に関する解析も引き続き進める(稲垣グループ)。

13. 研究発表(平成26年度の研究成果)

(雑誌論文) 計(2)件/うち査読付論文 計(0)件/うち国際共著論文 計(0)件/うちオープンアクセス 計(0)件

著者名		論文標題				
Takenori Shibahara, Yoshinori Hirano, Toshio Hakoshima		Structure of the free form of the N-terminal VH1 domain of monomeric -catenin				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著	
FEBS Lett.	無	589	2 0 1 5	1754-1760	-	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)						
10.1016/j.febslet.2015.05.053						
オープンアクセス						
オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難						

著者名		論文標題				
Shin-ichi Terawaki, Ken Kitano, Miki Aoyama, Tomoyuki Mori and Toshio Hakoshima		MT1-MMP recognition by ERM proteins and its implication in CD44 shedding				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著	
Genes to Cells	無	20	2 0 1 5	847-859	-	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)						
10.1111/gtc.12276						
オープンアクセス						
オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難						

(学会発表) 計(0)件/うち招待講演 計(0)件/うち国際学会 計(0)件

発表者名		発表標題	
学会等名	発表年月日	発表場所	

(課題番号: 26251006)

(注)・印刷に当たっては、A4判(縦長)・両面印刷すること。

(3/5)

(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. 科研費を使用して開催した国際研究集会

(国際研究集会) 計(0)件

国際研究集会名	開催年月日	開催場所

16. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

(1) 国際共同研究: -

17. 備考

