

平成18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 基盤研究(C)                      4. 研究期間 平成18年度 ~ 平成19年度
5. 課題番号 1 8 5 7 0 1 0 6
6. 研究課題名 IRE1によるmRNAスプライシング機構の構造的基盤

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
5 0 3 3 3 5 6 3	フリガナ コジマ, チョウジロウ 児嶋, 長次郎	バイオサイエンス研究科	助教授

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
7 0 3 4 6 3 1 0	フリガナ ミシマ, マサキ 三島, 正規	首都大学東京・理工学研究科	准教授
	フリガナ		

9. 研究実績の概要（国立情報学研究所でデータベース化するため、600字～800字で記入。図、グラフ等は記載しないこと。）

小胞体膜上の IRE1 は、N 末側を小胞体内腔に C 末側を細胞質に向けた I 型膜貫通蛋白質で、内腔側領域で変性蛋白質の蓄積を感知する。活性化した Ire1p は小胞体シャペロン遺伝子群の転写活性化因子 HAC1 の mRNA を特定の部位で切断し、スプライソソーム非依存のスプライシングを行うことで Hac1p の翻訳を可能にする。この全く新しいスプライシングは、1) 5' 側と 3' 側の切断が独立に起こる、2) tRNA リガーゼが関与する、3) 細胞質で行われる、などの特徴を持ち、酵母から高等動物まで広く保存されている情報伝達機構である。本研究では小胞体ストレス応答における IRE1 経路、特にスプライソソーム非依存型スプライシング機構の構造的基盤の解明を目指した。

平成18年度は Ire1p RNase ドメインの構造解析を中心に進めた。加えて細胞質領域の結晶化と HAC1 mRNA 切断部位を含むステムループ RNA の構造解析に取り組んだ。(1) NMR 測定のための 13C、15N 安定同位体標識を行い、バッファーや温度などの測定条件を最適化した。HEPES バッファーを用い、弱アルカリ性で測定した時に最も良好なスペクトルが得られた。(2) Ire1p 細胞質領域について大腸菌での大量発現系と精製系の確立に成功し、箱嶋敏雄教授(奈良先端大)の協力を得て結晶化に取り組んだ。タンパク質由来と思われる結晶が得られたが、現段階では再現性に乏しい。(3) Ire1p 細胞質領域が認識する RNA 配列に、配列特異的な立体構造があるかどうかを明らかにするために、Ire1p が認識する HAC1 mRNA の 2 つのステムループの立体構造解析に取り組んだ。イミノプロトンシグナルの解析から、ステム領域以外にも塩基対を形成している領域があることが示唆された。

※ 成果の公表を見合わせる必要がある場合は、その理由及び差し控え期間等を記入した調書（A4判縦長横書1枚）を添付すること。

10. キーワード

(1) 構造生物学	(2) NMR	(3) シグナル伝達
(4) タンパク質	(5) 分子認識	(6)
(7)	(8)	

(裏面に続く)

11. 研究発表（平成18年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計（ 4 ）件

著者名	論文標題		
Y. Tanaka	NMR spectroscopic study of a DNA duplex with mercury-mediated T-T basepairs		
雑誌名	巻・号	発行年	ページ
Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids	25	2 0 0 6	613-214

著者名	論文標題		
K. Furuita	<sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C and <sup>15</sup> N resonance assignments of the VAP-A: OSBP complex		
雑誌名	巻・号	発行年	ページ
J. Biomol. NMR	36	2 0 0 6	69

著者名	論文標題		
Y. Tanaka	<sup>15</sup> N- <sup>15</sup> N J-coupling across Hg <sup>II</sup> : Direct observation of Hg <sup>II</sup> -mediated T-T base pairs in a DNA duplex		
雑誌名	巻・号	発行年	ページ
J. Am. Chem. Soc.	129	2 0 0 7	244-245

著者名	論文標題		
M. Mishima	Solution structure of the cytoplasmic region of Na <sup>+</sup> /H <sup>+</sup> exchanger 1 complexed with essential cofactor calcineurin B homologous protein 1		
雑誌名	巻・号	発行年	ページ
J. Biol. Chem.	282	2 0 0 7	2741-2751

著者名	論文標題		
雑誌名	巻・号	発行年	ページ

著者名	論文標題		
雑誌名	巻・号	発行年	ページ

〔図書〕 計（ 0 ）件

著者名	出版社		
書名	発行年	総ページ数	

12. 研究成果による工業所有権の出願・取得状況

計（ 0 ）件

工業所有権の名称	発明者	権利者	工業所有権の種類、番号	出願年月日	取得年月日