

様式 C-7-1

平成19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 特定領域研究 4. 研究期間 平成19年度～平成20年度
5. 課題番号 1 9 0 3 6 0 1 4
6. 研究課題名 膜貫通型プロテアーゼの細胞骨格への連結の構造的基礎
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	カガナ ハコシマ, トシオ 箱嶋 敏雄	情報科学研究科	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
.....	カガナ		
.....	カガナ		
.....	カガナ		
.....	カガナ		
.....	カガナ		

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。)

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。

精製した組み替え型radixinのFERMドメイン（残基1-310）とII型膜タンパク質であるNEPの細胞質テールの合成ペプチド（22残基）との複合体を、結晶化ロボット（HYDRA-II）を用いて結晶化（ $a = 108.79$, $b = 116.84$, $c = 141.88$ Å, $P2_12_12_1$, 非対称単位に3複合体）して、SPRING-8により3.2 ÅのX線強度データを収集した。通常のMR法により位相決定して、最終的に $R_{\text{work}} = 0.233$ / $R_{\text{free}} = 0.267$ までREFMACを用いて構造の精密化を行った。構造に基づいて、変異ペプチドを合成して、表面プラズモン共鳴（BIACore3000）を用いた定量的な結合実験を行った。

得られたFERM-NEP複合体結晶中では、ペプチドの両親媒性領域は、FERMドメインのサブドメインCの浅い溝に結合して、 β -鎖とそれに続くヘヤピン構造を形成していた。

このb-b相互作用は、ICAM-2などのI型膜タンパク質の接着分子とのものと極性が同一であり、「II型膜タンパク質であるNEPでは β - β 相互作用の極性が逆を向く」ということは起こっていないことが判明した。

NEPの認識には、配列MxITxIN（これを**Motif-1b配列**と命名した）が重要であることが結論された。ここで、xINx配列がヘヤピン構造を形成し、TxI配列が、ICAM-2のYxV配列に相当する部位に結合する。NEPとMotif-1をもつCD44などの接着分子とのサブドメインC上での結合部位の重複は、NEPとERMタンパク質との相互作用による細胞接着の抑制の構造的基礎を与えている。

※ 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) NEP | (2) ERM | (3) 膜タンパク質 |
| (4) アダプタータンパク質 | (5) シグナル伝達 | (6) |
| (7) | (8) | (裏面に続く) |

11.研究発表（平成19年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計（ 8 ）件

著者名	論文標題				
Terawaki, S.	Structural basis for type II membrane protein binding by ERM proteins revealed by the radixin-neutral endopeptidase 24.11 (NEP) complex.				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
J. Biol. Chem.	有	282	2017	19854-19862	

著者名	論文標題				
Mishima, M.	Structural basis for the CLIP-170 CAP-Gly domain grasping the C-terminal acidic tail of α -tubulin.				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
Proc. Natl. Acad. Sci. USA	有	104	2017	10346-10351	

著者名	論文標題				
Mori, T.	Crystallographic characterization of the radixinFERM domain bound to the cytoplasmic tail of adhesion molecule CD44.				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
Acta Crystallogr. F	有	63	2017	844-847	

著者名	論文標題				
Hakoshima, T.	Structure of SixA, a histidine protein phosphatase of the ArcB HPT domain in <i>E. coli</i> .				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
Methods in Enzymology	無	422	2017	288-304	

著者名	論文標題				
Takai, Y	Structural basis of PSGL-1 binding to ERM proteins.				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
Genes to Cells	有	12	2017	1329-1338	

著者名	論文標題				
Sakurai, S.	Crystallization and preliminary crystallographic analysis of the catalytic domain of human flap endonuclease-1 FEN1 in complex with a nicked DNA product: Use of a DPCS kit for efficient protein-DNA complex crystallization.				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
Acta Crystallogr. F	有	64	2018	39-43	

著者名	論文標題				
合田 圭吾	血管収縮阻害剤：Rhoキナーゼの構造と機能				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
医薬ジャーナル	無	44	2018	5-10	

著者名	論文標題				
前崎 綾子	微小管ダイナミクスを制御する蛋白質の構造研究				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
蛋白質核酸酵素	無	53	2018	139-147	

〔学会発表〕 計（ 4 ）件

発表者名	発表標題		
Tomoyuki Mori	Crystallographic characterization of the radixin FERM domain bound to cytoplasmic tail of adhesion molecule CD44		
学会等名	発表年月日	発表場所	
The 8th Conference of the Asian Crystallographic Association (AsCA '07)	2007年11月6日	Taipei, Taiwan R.O.C.	

発表者名	発表標題		
箱嶋 敏雄	ERMタンパク質によるペプチド認識：特異性と複数結合部位の干渉性		

学 会 等 名	発 表 年 月 日	発 表 場 所
日本生物物理学会第45回（2007年度）年会シンポジウム「タンパク質リガンド相互作用」	2007年12月23日	横浜

発 表 者 名	発 表 標 題	
Toshio Hakoshima	Structural basis for neutral endopeptidase 24.11 recognition by ERM proteins	
学 会 等 名	発 表 年 月 日	発 表 場 所
特定領域研究「膜インタフェイス」国際シンポジウムin福岡	2008年1月25日	福岡

発 表 者 名	発 表 標 題	
箱嶋 敏雄	Rho-キナーゼの構造と活性制御：非典型AGCキナーゼとしての特徴	
学 会 等 名	発 表 年 月 日	発 表 場 所
第283回CBI研究講演会「キナーゼの構造多様性と阻害剤の開発」	2008年2月21日	東京

〔 図 書 〕 計 (1) 件

著 者 名	出 版 社		
Gohda, K.	Nova Science Publishers, Inc.		
書 名		発 行 年	総ページ数
P-loop pliability of Rho-kinase for inhibitor binding. in Drug Design Research Perspectives		2 0 0 7	39-56

12. 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

13. 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 w e b ページがある場合は、URLを記載すること。

--