

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)  
実施状況報告書(平成22年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	細胞内Mg <sup>2+</sup> 制御の分子実体解明とがん悪性化シグナル
研究機関・ 部局・職名	大阪大学・蛋白質研究所・教授
氏名	三木 裕明

### 1. 当該年度の研究目的

本研究の開始年度であるが、研究期間が約1ヶ月半しかないため、23年度以降の研究計画をスムーズに実施できるようにするための準備的な作業を主に行う。具体的には、23年度以降の解析実験に用いることになる各種組換え蛋白質発現系の作成、各種遺伝子・ノックダウンコンストラクトを導入した安定発現細胞株の作成、MagEx 遺伝子ノックアウト ES 細胞の入手、線虫での遺伝子発現系の作成、を行う。また、MagEx による mTOR シグナル上流因子への影響の解析や線虫遺伝子変異体スクリーニングにも取りかかる。さらに、23年度からの研究体制を早期に構築できるようにするため、本研究費で雇用する特任研究員と実験補助員の人選を進める。

### 2. 研究の実施状況

Mg<sup>2+</sup>輸送の in vitro 再構成実験および立体構造解析のために、MagEx と PRL の組換え蛋白質を大量に発現、精製するための準備、条件検討を行った。PRL は大腸菌で容易に発現し精製もできたが、膜蛋白質である MagEx に関しては大腸菌や昆虫細胞ではほとんど発現できず、in vitro の系での発現に取りかかっている。次に、MagEx によって影響を受ける mTOR の活性制御に関わる上流因子の活性化状態を調べた。その結果、MagEx の強制発現によって、mTOR の上流で機能するリン酸化酵素 Akt も mTOR と同様に活性が減弱していること、また、細胞膜での PIP3 集積が減少している可能性を示唆する結果が得られた。マウスがん転移モデルでの機能解析のため、B16 メラノーマ(悪性黒色腫)細胞に PRL や MagEx ノックダウンコンストラクトを安定発現させた細胞株の作成を行った。既に準備していた MagEx 遺伝子ノックアウト ES 細胞を用いて、インジェクション法によりキメラマウスの作成を進めている。線虫の PRL および MagEx 相同分子(Ce-PRL、Ce-MagEx)の個体での発現部位を明らかにするため、遺伝子のプロモーター下流に GFP を連結した発現コンストラクトを作製し、PRL に関しては特定の神経細胞で強く発現していることなどを見つけた。また、Ce-PRL および Ce-MagEx 遺伝子の変異体スクリーニングを開始した。これらの実験作業と並行して、23年度から雇用する研究員と実験補助員の人選を進め、研究員1名と実験補助員2名を本研究の推進のために雇用することを決めた。

様式19 別紙1

3. 研究発表等

雑誌論文 計4件	<p>(掲載済み一査読有り) 計1件 Müller L, Funato Y, <u>Miki H</u>, Zimmermann R. An interaction between human Sec63 and nucleoredoxin may provide the missing link between the SEC63 gene and polycystic liver disease. <i>FEBS Lett.</i> 2011, 585(4):596-600.</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計0件</p> <p>(未掲載) 計3件 Morinaka A, Yamada M, Itofusa R, Funato Y, Yoshimura Y, Nakamura F, Yoshimura T, Kaibuchi K, Goshima Y, Hoshino M, Kamiguchi H, <u>Miki H</u>. Thioredoxin Mediates Oxidation-Dependent Phosphorylation of CRMP2 and Growth Cone Collapse. <i>Science Signal.</i> (in press)</p> <p>Morinaka A, Funato Y, Uesugi K, <u>Miki H</u>. Oligomeric peroxiredoxin-I is an essential intermediate for p53 to activate MST1 kinase and apoptosis. <i>Oncogene.</i> (in press)</p> <p>Yoshimura Y, <u>Miki H</u>. Dynamic regulation of GEF-H1 localization at microtubules by Par1b/MARK2. <i>Biochem Biophys Res Commun.</i> (in press)</p>
会議発表 計0件	<p>専門家向け 計0件</p> <p>一般向け 計0件</p>
図書 計0件	
産業財産権 出願・取得状況 計0件	<p>(取得済み) 計0件</p> <p>(出願中) 計0件</p>
Webページ (URL)	<p>大阪大学の「教育・研究活動」のウェブページ内に本研究に関する概要説明や研究者紹介のページが掲載された。</p> <p>大阪大学: <a href="http://www.osaka-u.ac.jp/ja/research/program_next">http://www.osaka-u.ac.jp/ja/research/program_next</a></p> <p>大阪大学大型教育研究プロジェクト支援室: <a href="http://www.lserp.osaka-u.ac.jp/pdf/nx/g_Is083hiroaki_miki.pdf">http://www.lserp.osaka-u.ac.jp/pdf/nx/g_Is083hiroaki_miki.pdf</a></p> <p><a href="http://www.lserp.osaka-u.ac.jp/profile/Hiroaki_MIKI.html">http://www.lserp.osaka-u.ac.jp/profile/Hiroaki_MIKI.html</a></p>
国民との科学・技術対話の実施状況	22年度は時間的な制約のため実施しなかった。
新聞・一般雑誌等掲載 計0件	
その他	

4. その他特記事項

## 実施状況報告書(平成22年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

## 1. 助成金の受領状況(累計) (単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額
直接経費	113,000,000	0	37,500,000	75,500,000
間接経費	33,900,000	0	11,250,000	22,650,000
合計	146,900,000	0	48,750,000	98,150,000

## 2. 当該年度の収支状況 (単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度 執行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額
直接経費	0	37,500,000	0	37,500,000	400,000	37,100,000
間接経費	0	11,250,000	0	11,250,000	0	11,250,000
合計	0	48,750,000	0	48,750,000	400,000	48,350,000

## 3. 当該年度の執行額内訳 (単位:円)

	金額	備考
物品費	400,000	実験試薬等(DNA抽出試薬キット等)の購入
旅費	0	
謝金・人件費等	0	
その他	0	
直接経費計	400,000	
間接経費計	0	
合計	400,000	

## 4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
				0		
				0		
				0		