

課題番号	LS101
------	-------

**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	In vivo 構造プロテオミクスの創生と展開
研究機関・ 部局・職名	首都大学東京・理工学研究科・教授
氏名	伊藤 隆

1. 当該年度の研究目的

蛋白質の構造・機能相関の正確な記述には、生細胞中の蛋白質動態の詳細な解析が不可欠である。生細胞内蛋白質の解析手段として in-cell NMR 法が注目されてきているが、この手法を発展させることによって、あらゆる生体分子に適用可能な汎用的な技術に成熟させ、様々な蛋白質への多角的・網羅的解析を可能にすることが本研究の目的である。

H22 年度は、in-cell NMR 法の基盤となる要素技術の確立と高度化・最適化を研究目的とした。具体的には、細胞内蛋白質の解析法の高度化、細胞内蛋白質の立体構造解析をより高分解能で行うための技術開発、細胞内蛋白質のダイナミクス解析法の最適化を目標に掲げた。

2. 研究の実施状況

本研究では (i) 細胞内外でのフレキシブルな領域の立体構造の差異の解析, (ii) 細胞内での IDP(内在的に立体構造を取らない蛋白質)の構造解析, (iii) 分子クラウディングによる蛋白質の安定性への影響の定量的解析, (iv) 蛋白質・蛋白質相互作用, および蛋白質・基質相互作用の解析の高度化, の 4 テーマについて研究を行う。

H22 年度の実施状況は以下の通り。テーマ(i)では生きた細胞中の蛋白質の立体構造解析手法の高度化を行った。私たちは細胞内濃度が数 mM に達する蛋白質について高次構造解析を行ってきたが、より生理学的濃度に近い(濃度が薄い)蛋白質についても立体構造解析を行っていく必要がある。技術開発のためのモデル系として、大腸菌中の連鎖球菌 protein G B1 ドメインの構造解析を行った(細胞内蛋白質の構造解析としては世界で二番目の例)。この結果、従来よりも1ケタ低い濃度の試料についても高分解能の立体構造を算出することに成功した(図)。テーマ(ii)では、IDP の例として、ヒト Rad52C 末端領域や酵母 Mre11C 末端領域を用いて in-cell NMR 解析を開始した。テーマ(iii)では、生細胞内蛋白質の種々の ¹⁵N 緩和解析法の最適化を行った。テーマ(iv)では、真核細胞を用いた in-cell NMR 研究に注目し、培養昆虫細胞やヒト培養細胞を用いた系における、NMR シグナルの解析法の改良を試みた。



図. In-cell NMR によって決定した生きた大腸菌内の GB1 蛋白質の立体構造

様式19 別紙1

3. 研究発表等

雑誌論文 計 1 件	(掲載済み一査読有り) 計 1 件 Teppei Ikeya, Jun-Goo Jee, Yoshiki Shigemitsu, Jumpei Hamatsu, Masaki Mishima, <u>Yutaka Ito</u> , Masatsune Kainosho & Peter Güntert “Exclusively NOESY-based automated NMR assignment and structure determination of proteins.” Journal of Biomolecular NMR. 2011 Mar 30. [Epub ahead of print] (http://www.springerlink.com/content/qk50366368607132/) (掲載済み一査読無し) 計 0 件 (未掲載) 計 0 件
会議発表 計 1 件	専門家向け 計 1 件 伊藤 隆 「NMR を用いた細胞構造生物学」, よこはま NMR 構造生物学研究会第 41 回ワークショップ:「最先端 NMR 技術で切り拓く構造生物学の未来」(よこはま NMR 構造生物学研究会主催), 横浜市, H23 年 3 月 2 日 一般向け 計 0 件
図 書 計 0 件	
産業財産権 出願・取得状 況 計 0 件	(取得済み) 計 0 件 (出願中) 計 0 件
Webページ (URL)	http://www.comp.tmu.ac.jp/osbc/Group_Ito/index.html
国民との科 学・技術対話 の実施状況	HP 等インターネット上で研究の概要や研究成果の発信を行った。
新聞・一般雑 誌等掲載 計 0 件	
その他	

4. その他特記事項

特になし。

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	108,000,000	0	38,950,000	69,050,000
間接経費	32,400,000	0	11,685,000	20,715,000
合計	140,400,000	0	50,635,000	89,765,000

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	38,950,000	0	38,950,000	1,908,296	37,041,704
間接経費	0	11,685,000	0	11,685,000	0	11,685,000
合計	0	50,635,000	0	50,635,000	1,908,296	48,726,704

3. 当該年度の執行額内訳 (単位:円)

	金額	備考
物品費	1,324,417	冷却遠心機, PC, 実験試薬等
旅費	0	
謝金・人件費等	0	
その他	583,879	遺伝子合成委託, ペプチド合成委託等
直接経費計	1,908,296	
間接経費計	0	
合計	1,908,296	

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		