

**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	RNA合成酵素の反応制御分子基盤
研究機関・ 部局・職名	独立行政法人産業技術総合研究所・バイオメディカル研究部門・研究グループ長
氏名	富田 耕造

1. 当該年度の研究目的

平成22年度の計画は、それぞれのRNA合成酵素の複合体の構造解析に用いるRNA配列等のデザイン、およびRNA合成酵素の発現システムの構築準備を行う。
具体的にはウイルスRNA合成酵素と翻訳因子複合体の結晶構造を基にしたウイルスRNA合成酵素—翻訳因子—RNAの結晶化のためのRNAのデザイン、ポリA付加酵素単体の結晶構造を基にした、RNA複合体結晶化のためのRNAデザイン、またヒト由来の鋳型非依存的RNA合成酵素の安定な大量発現システムの構築およびデザインを行い、機能解析、構造解析に向けた準備を行う。

2. 研究の実施状況

種々のRNA合成酵素の機能—構造、そして制御機構を明らかにするため、本年度は、新たに機能—構造、そして制御を解析するいくつかのヒト由来の鋳型非依存的RNA合成酵素の大量発現システムの構築を進めるとともに、これまで研究者らが構造—機能解析をおこなってきたウイルス由来RNA合成酵素に関しては、RNAとの複合体の解析に必要なRNAのデザインやそれらのRNAを用いた結晶化スクリーニングを行った。

本申請であつかう、ヒト由来の鋳型を用いないRNA合成酵素の場合には、それらの遺伝子をクローニングした。また、大腸菌での大量発現プラスミドの構築を行った。多くのヒト由来の蛋白質は大腸菌での大量発現や精製が困難であることが考えられるため、大腸菌でのシステム以外にヒトの細胞を用いた大量発現システムの構築、デザインをおこない、大量発現プラスミドの構築をおこなった。また、これらのRNA合成酵素の生体内での他の因子との相互作用や制御機構を解析するためのプラスミドの作成も行った。

一方、本申請で扱うウイルス由来のRNA合成酵素は、宿主の蛋白質を複合体を形成して機能する。研究者がこれまで解析を進めてきたRNA合成酵素—宿主蛋白質複合体構造をもとにして、その複合体がRNA合成を開始し、そしてその後の伸長へと遷移する様子を解析するのに適切な短いモデルRNAのデザインを行った。また、それらのRNAを用いてRNA合成過程をあらわした複数の結晶の作成を試みた。これらの構造解析から、RNA合成酵素—宿主蛋白質複合体によるRNA合成反応機構が明らかにされると考えられ、また、宿主蛋白質のRNA合成における役割が明らかになると期待される。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計1件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計1件 Yukimatsu Toh Y, Daijiro Takeshita, Takashi Nagaike, Tomoyuki Numata, Kozo Tomita “Mechanism for the Alteration of the Substrate Specificities of Template-Independent RNA Polymerases” Structure, 2011, Vol 19, No 2, 232-243. http://www.cell.com/structure/abstract/S0969-2126(10)00444-2 (掲載済み一査読無し) 計0件 (未掲載) 計0件</p>
<p>会議発表 計1件</p>	<p>専門家向け 計1件 富田 耕造 “Structure and Function of Qβ Replicase” 大阪、大阪大学、四方研究室 セミナー、2011年2月24日 一般向け 計0件</p>
<p>図書 計0件</p>	<p>特になし</p>
<p>産業財産権 出願・取得状 況 計0件</p>	<p>(取得済み) 計0件 (出願中) 計0件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>「ポリA配列を mRNA に付加する RNA 合成酵素の特異性を分子レベルで解明」 2011年5月9日 産業技術総合研究所 ホームページ 主な研究成果 http://www.aist.go.jp/aist_j/new_research/nr20110509/nr20110509.html</p>
<p>国民との科 学・技術対話 の実施状況</p>	<p>特になし</p>
<p>新聞・一般雑 誌等掲載 計0件</p>	<p>特になし</p>
<p>その他</p>	<p>特になし</p>

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	121,000,000	0	55,600,000	65,400,000
間接経費	36,300,000	0	16,680,000	19,620,000
合計	157,300,000	0	72,280,000	85,020,000

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	55,600,000	0	55,600,000	1,230,452	54,369,548
間接経費	0	16,680,000	0	16,680,000	369,135	16,310,865
合計	0	72,280,000	0	72,280,000	1,599,587	70,680,413

3. 当該年度の執行額内訳 (単位:円)

	金額	備考
物品費	1,142,883	クロマトチャンバー、ステンレス架台、カスタムDNA他
旅費	0	
謝金・人件費等	0	
その他	87,569	英文校正(SKYBAY Scientific Editing)
直接経費計	1,230,452	
間接経費計	369,135	
合計	1,599,587	

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
クロマトチャンバー	MC-20EF 日 本フリーザー	1	821,100	821,100	2011/3/31	産業技術総合 研究所
				0		
				0		