

**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	両親媒性ペプチドを用いた革新的細胞核内物質導入技術の開発
研究機関・ 部局・職名	京都大学・大学院生命科学研究科・准教授
氏名	吉村成弘

1. 当該年度の研究目的

本研究者はこれまでに、細胞質の物質が核膜というバリアを越えて核質へ移行するには、「両親媒性」が重要な役割を果たしていることを見出している。本年度は、この知見をさらに発展させ、核内移行に最も適した両親媒性構造を見出すことを目的に、天然に存在するタンパク質が有する両親媒性構造を網羅的に解析することで、その構造の普遍性・特異性を明らかにする。また、これらのペプチドを発現、精製、もしくは合成する準備を行う。具体的な目的は以下の通り。

- ・タンパク質データベースに含まれるタンパク質を対象に、その1次、2次、3次構造から、両親媒性ヘリクスを網羅的に拾い出し、その構造の普遍性、特異性を解析する。特に、3本鎖や4本鎖ヘリクス構造に着目し、「両親媒性データベース」を作成する。
- ・この中から実際に核内へ移行することが知られているものを手がかりに、その共通性を見出し、そのペプチドの発現、精製、もしくは合成を行う。

2. 研究の実施状況

- ・タンパク質データベースに含まれるヒトタンパク質を対象に、両親媒性ヘリクス構造(コイルドコイル、スペクトリンリピート等)を見つけ出し、これを網羅的に解析した。コイルドコイル構造のような2本鎖はタンパク質の1次構造から予測が可能であるが、スペクトリンリピートのような短い分子内3重鎖ヘリクス構造を1次配列から予測することは極めて困難である。ここでは、すでに知られているスペクトリンリピートを含むタンパク質の構造から、スペクトリンリピートに共通した性質を見つけ出す試みを行っている。特に、 α ヘリクス内の疎水性アミノ酸や、酸性、塩基性アミノ酸の位置に注目しながら両親媒性3重鎖ヘリクス構造の共通性を探索し、これをもとに、1次配列から構造を予測するプログラムを作成中である。
- ・actinin4 や dystrophin に含まれる3重鎖アルファヘリクス構造を大腸菌で発現させ、アフィニティーカラムやイオン交換カラムを用いて精製し、量子ドットやウシ血清アルブミンタンパク質(BSA)(蛍光標識済み)の表面に部位特異的に結合させた。HeLa 細胞をジギトニンで処理することにより細胞膜を透過させ、これに精製した3重鎖アルファヘリクスを結合させた量子ドットや BSA を添加し、核内への移行量を蛍光顕微鏡により定量観察した。これまでに約10種類以上の3重鎖アルファヘリクス構造に関して核移行能を検証したが、そのうちのいくつかは弱いながらも核移行能を示した。
- ・スペクトリンリピート以外にも、両親媒性構造を持つモチーフ(HEATリピート、Armリピート、ロイシンリッチリピート、TPR等)に着目し、これらのタンパク質を発現・精製し、核移行能を調べる準備を進めている。

様式19 別紙1

3. 研究発表等

雑誌論文 計0件	(掲載済み一査読有り) 計0件 (掲載済み一査読無し) 計0件 (未掲載) 計0件
会議発表 計0件	専門家向け 計0件 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)	
国民との科 学・技術対話 の実施状況	なし
新聞・一般雑 誌等掲載 計0件	
その他	特になし

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	86,000,000	0	36,500,000	49,500,000
間接経費	25,800,000	0	10,950,000	14,850,000
合計	111,800,000	0	47,450,000	64,350,000

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	36,500,000	0	36,500,000	0	36,500,000
間接経費	0	10,950,000	0	10,950,000	75,000	10,875,000
合計	0	47,450,000	0	47,450,000	75,000	47,375,000

3. 当該年度の執行額内訳 (単位:円)

	金額	備考
物品費	0	
旅費	0	
謝金・人件費等	0	
その他	0	
直接経費計	0	
間接経費計	75,000	
合計	75,000	

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		