

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		がん細胞における SF3b1 を介したスプライシング異常の研究			
研究テーマ (欧文) AZ		Structural and functional analysis of the human spliceosomal protein SF3b1			
研究氏 代表名 者	カナカナ CC	姓)クワサコ	名)カナコ	研究期間 B	2015 ~ 2017 年
	漢字 CB	桑迫	香奈子	報告年度 YR	2017 年
	ローマ字 CZ	Kuwasako	Kanako	研究機関名	武蔵野大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		武蔵野大学 薬学部・薬学研究所 ・ 講師			
概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)					
<p>様々ながん細胞において、スプライシング因子 SF3b1 タンパク質の特定のリジン残基に変異が生じていることが報告されてきている。本研究は、主に構造生物学的手法によって SF3b1 のリジン残基のスプライシングにおける役割とその変異がスプライシングに与える影響を明らかにすることが目的である。</p> <p>まず、大腸菌を宿主とした SF3b1 の発現系の検討を行った。SF3b1 の機能発現に重要と考えられる領域(がん細胞で集中的に変異が生じているリジン残基を含む)を含むいくつかのコンストラクトで、様々なタグを付加して発現させたところ、発現はするものの、不溶化してしまった。そこで、大腸菌由来の無細胞タンパク質合成系の利用を試みた。この系は、反応液中にポリエチレングルコールが添加されているため、タンパク質によっては可溶化できることがある。しかしながら、SF3b1 の場合は、可溶化できない上に、発現量も少なかった。以上から、SF3b1 の発現は、大腸菌による発現で行うのがよいと考えられた。今後は、低温でゆっくり発現させることで目的のタンパク質を可溶性画分に発現させるベクターや、可溶性画分に発現させやすい宿主大腸菌の利用を検討している。</p> <p>SF3b1 は、ブランチ部位を認識する U2 snRNP の構成因子である。そこで、SF3b1 や、ブランチ部位認識に関わるいくつかのタンパク質について、相互作用を調べている。現在、NMR 法を用いて相互作用のあるタンパク質を同定しつつある。今後は、このタンパク質複合体の立体構造解析を行い、複合体形成メカニズムを解明する予定である。</p>					
キーワード FA	pre-mRNA スプライシング	構造生物学			

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA									
研究機関番号 AC					シート番号									

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}	Solution structure of the first RNA recognition motif domain of human spliceosomal protein SF3b49 and its mode of interaction with a SF3b145 fragment.							
	著者名 ^{GA}	K. Kuwasako <i>et. al.</i>	雑誌名 ^{GC}	Protein Sci.					
	ページ ^{GF}	280~291	発行年 ^{GE}	2	0	1	7	巻号 ^{GD}	26
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要^{EZ}

Mutations of several lysine residues in the splicing factor *SF3b1* gene have been found in various cancer cells. The purpose of this study is to reveal a role of the lysine residues in pre-mRNA splicing and show effects of mutations of the lysine residues in a series of the splicing process using NMR analysis.

First, we tried to construct the expression system of the SF3b1 protein from human using the *E. coli* system. The synthetic DNA encoding the SF3b1 fragments were cloned into various expression vectors, and *E. coli* strain BL21 (DE3) cells were transformed with each of the recombinant plasmid vectors. No fractions of soluble SF3b1 protein were obtained for any vectors. Besides, we used the *E. coli*-based cell-free protein synthesis system, and however, rarely observed any expression of the SF3b1 protein. At present, we are trying to use a different *E. coli* strain and to optimize growth temperature of the strain for soluble SF3b1 protein.

In addition, we are trying to investigate interactions among the proteins involved in branch point recognition, including the SF3b1 protein, using NMR methods. We have found a candidate for a protein-protein interaction partner. In the near future, we plan to determine a complex structure of the candidate.