

様 式 F - 7 - 2

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）実績報告書（研究実績報告書）

1. 機関番号

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 3 | 2 | 6 | 9 | 2 |
|---|---|---|---|---|

 2. 研究機関名 東京工科大学
3. 研究種目名 若手研究(B) 4. 補助事業期間 平成23年度～平成24年度
5. 課題番号

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 2 | 3 | 7 | 0 | 0 | 5 | 4 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
6. 研究課題 細胞内糖化物センシング法及び細胞機能制御基盤技術の開発

7. 研究代表者

| 研究者番号 | 研究代表者名 | 所属部局名 | 職名 |
|-----------------|--------------------------|--------|----|
| 7 0 4 6 9 7 8 2 | ミカミ アカネ 三上 あかね（坂口あかね） | 応用生物学部 | 助教 |

8. 研究分担者

| 研究者番号 | 研究分担者名 | 所属研究機関名・部局名 | 職名 |
|-------|--------|-------------|----|
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |

9. 研究実績の概要

本研究では、糖尿病合併症やアルツハイマー病等の疾病に関与する糖化物（GPs）を認識する転写調節因子の構築、及び、これに基づく、細胞内GPs濃度応答性の遺伝子発現制御技術の開発を目的とする。

はじめに、GPsに特異的に応答する転写調節因子の構築を試みた。まず、糖化物応答性転写調節因子の検索およびクローニングを試みた。これまでに、糖化物特異的に誘導発現する真核生物由来のタンパク質の報告はない。また、これまでの研究代表者らの研究から細菌由来のGPs異化機構に存在するLacI様蛋白質(SocR)またはGntR様蛋白質(FrIR)の遺伝子はGPs応答性の転写調節因子(GprR)であると示唆されている。そこで、PCRを用いてGPs産生細菌のゲノムよりSocR遺伝子およびFrIRのクローニング及び、大腸菌発現用ベクターを構築した。また、これらを用いて大腸菌を形質転換し、SocRおよびFrIRの組換え生産及び精製を行った。続いて、in vitroにおけるGprR様タンパク質の特性検討を行った。まず得られた組換えSocRを用いて、リガンド結合能を評価したところ、SocRは、糖化物に結合することが示され、SocRは新規のGprRであることが示唆された。そこで、コンピューターシミュレーションを用いて、SocR立体構造モデル、及びSocRのリガンド(GP)結合ドメインにLacIのDNA結合ドメイン及び複合体形成ドメインを付加したキメラタンパク質(LacI-SocR chimeric protein, LSCP)の立体構造モデルを作製した。これを基に、LSCP大腸菌及び動物細胞発現用ベクターの構築を行い動物細胞における転写調節因子としての機能評価を試みた。今後、動物細胞内におけるGprR機能を示すことで、細胞内GPs濃度応答性遺伝子発現制御技術の構築が可能になると期待される。

10. キーワード

- (1) 生体情報・計測 (2) 細胞機能制御 (3) 細胞内計測 (4) 糖尿病
 (5) 糖化物 (6) 転写調節因子 (7) (8)

11.研究発表

〔雑誌論文〕計(2)件 うち査読付論文 計(2)件 (最終年度分)

| 著者名 | | 論文標題 | | | |
|---|-------|--|---------|------------|--|
| Sakaguchi-Mikami A, Kameya M, Ferri S, Tsugawa W, Sode K. | | Cloning and Characterization of Fructosamine-6-Kinase from <i>Arthrobacter aurescens</i> | | | |
| 雑誌名 | 査読の有無 | 巻 | 発行年 | 最初と最後の頁 | |
| Appl Biochem Biotechnol | 有 | Apr 23 | 2 0 1 3 | Epub print | |
| 掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) | | | | | |
| doi:10.1007/s12010-013-0229-8 | | | | | |

| 著者名 | | 論文標題 | | | |
|--|-------|---|---------|---------|--|
| Sakaguchi-Mikami A, Ferri S, Katayama S, Tsugawa W, Sode K | | Identification and functional analysis of fructosyl amino acid-binding protein from Gram-positive bacterium <i>Arthrobacter</i> sp. | | | |
| 雑誌名 | 査読の有無 | 巻 | 発行年 | 最初と最後の頁 | |
| J Appl Microbiol | 有 | 114(5) | 2 0 1 3 | 1449-56 | |
| 掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) | | | | | |
| doi:10.1111/jam.12152 | | | | | |

〔学会発表〕計(3)件 うち招待講演 計(1)件 (最終年度分)

| 発表者名 | | 発表標題 | |
|-----------------------|-------------------------|--------------------------|--|
| 三上あかね | | 糖化タンパク質計測用新規分子認識素子の探索と計測 | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 | |
| 第22回日本メイラード学会年会(招待講演) | 2012年12月21日~2012年12月22日 | 東京農工大学、東京 | |

| 発表者名 | | 発表標題 | |
|------------------|--|---------------------------------------|-----------|
| 大矢修一、軽部征夫、三上 あかね | | 新規糖化物応答性転写調節因子様タンパク質SocRのクローニング及び特性検討 | |
| 学会等名 | | 発表年月日 | 発表場所 |
| 第22回日本メイラード学会年会 | | 2012年12月21日～2012年12月22日 | 東京農工大学、東京 |

| 発表者名 | | 発表標題 | |
|----------------------|--|-------------------------|----------------------|
| 三上あかね・大矢修一・山崎智彦・軽部征夫 | | 細胞内糖化物応答性転写調節因子の検索 | |
| 学会等名 | | 発表年月日 | 発表場所 |
| 第93日本化学会春季年会 | | 2013年03月22日～2013年03月25日 | 立命館大学びわこ・くさつキャンパス、滋賀 |

〔図書〕計(0)件 (最終年度分)

| 著者名 | | 出版社 | | |
|-----|--|-----|-----|-------|
| | | | | |
| 書名 | | | 発行年 | 総ページ数 |
| | | | --- | |

12. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

〔出願〕計(0)件 (最終年度分)

| 産業財産権の名称 | 発明者 | 権利者 | 産業財産権の種類、番号 | 出願年月日 | 国内・外国の別 |
|----------|-----|-----|-------------|-------|---------|
| | | | | | |

〔取得〕計(0)件 (最終年度分)

| 産業財産権の名称 | 発明者 | 権利者 | 産業財産権の種類、番号 | 取得年月日 | 国内・外国の別 |
|----------|-----|-----|-------------|-------|---------|
| | | | | | |
| | | | | 出願年月日 | |
| | | | | | |

13.備考

| |
|--|
| |
|--|