

共同研究報告書

京都大学再生医科学研究所長 殿

研究代表者（申請者）

所属：大阪大学蛋白質研究所

プロテオミクス総合研究センター

職名：教授

氏名：高木 淳一

下記のとおり共同研究課題の実施結果について報告します。

記

1. 研究課題：幹細胞—ニッチ間相互作用とその制御の分子メカニズムの構造生物学的解明
2. 再生医科学研究所共同研究者：瀬原 淳子
3. 研究期間：短期研究課題 ・ 長期研究課題
(平成22年4月1日～平成23年3月31日)

4. 研究経過及び研究成果：

幹細胞ニッチの分子の実体は細胞外マトリックスやニッチ細胞上の接着分子であることが予想されるが、これらの働きを分子レベルで理解するには、細胞の中で起こるシグナル伝達のみを解析するだけでは足りない。本研究では、細胞—ニッチ間の相互作用とその制御に関わる分子（接着分子およびプロテアーゼ）の構造生物学的解析を通して、「細胞によるニッチの認識」を原子レベルで理解し、その人工的制御の可能性を探ることを目的とした。

インテグリンやI gファミリーの接着受容体、あるいは各種のADAMプロテアーゼなどの膜蛋白質の細胞外領域を動物細胞発現系で生産・精製し、これらを大阪大学で結晶化と構造解析するとともに、得られた組み換え可溶性蛋白質の細胞に対する作用を、再生研瀬原研究室でゼブラフィッシュを用いて調べてきた。細胞外マトリックスや膜型受容体を切断するADAMプロテアーゼの基質認識機構を、精製組み換え蛋白質の構造情報と生化学的実験を組み合わせて突き止めるとともに、得られた構造的基盤に基づいて変異体をデザインし、これを細胞や個体に戻してその仮説の検証を行う予定である。

5. 研究成果の公表

※発表論文リスト（掲載予定、プレプリントを含む。準備中も可）、学会発表等
<発表論文>

1. Tanaka, H., Nogi, T., Yasui, N., Iwasaki, K. and Takagi, J. (2011) Structural Basis for Variant-Specific Neuroligin-Binding by α -Neurexin. *PLoS One*, 6, e19411.
2. Nishimasu, H., Okudaira, S., Hama, K., Mihara, M., Dohmae, N., Ishitani, R., Takagi, J., Aoki, J., Nureki, O. (2011) Crystal structure of Autotaxin, a secreted lysophospholipase D that generates GPCR-signaling lipid mediator. *Nature Struct. Mol. Biol.*, 18, 205-212.
3. Nakata, Z., Nagae, M., Yasui, N., Bujo, H., Nogi, T., and Takagi, J. (2011) Crystallization and preliminary crystallographic analysis of human LR11 Vps10p domain. *Acta Crystallographica*. F67, 129-132.
4. Nogi, T., Yasui, N., Mihara, E., Matsunaga, Y., Noda, M., Yamashita, N., Toyofuku, T., Goshima, Y., Kumanogoh, A. and Takagi, J. (2010) Structural basis for semaphorin signaling through the plexin receptor. *Nature*, 467, 1123-1127.
5. Kishimoto-Okada, A., Murakami, S., Ito, Y., Horii, N., Furukawa, H., Takagi, J., Iwasaki, K. (2010) Comparison of the envelope architecture of E. coli using two methods: CEMOVIS and cryo-electron tomography. *J. Electron Microsc.* 59, 419-426.
6. Sasaki, T., Takagi, J., Giudici, C., Yamada, Y., Arikawa-Hirasawa, E., Deutzmann, R., Timpl, R., Sonnenberg, A., Bächinger, H.P., Tonge, D. (2010) Laminin-121-Recombinant expression and interactions with integrins. *Matrix Biology*, 29, 484-493.
7. Tabata, S., Nampo, M., Mihara, E., Tamura-Kawakami, K., Fujii, I., and Takagi, J. (2010) A rapid screening method for cell lines producing singly-tagged recombinant proteins using the "TARGET tag" system. *J. Proteomics*, 73, 1777-1785.
8. Yasui N, Nogi T, Takagi J. (2010) Structural basis for specific recognition of reelin by its receptors. *Structure*, 18, 320-331.
9. Yasui N, Mihara E, Nampo M, Tamura-Kawakami K, Unno H, Matsumoto K, Takagi J. (2010) Detection of endogenous LRP6 expressed on human cells by monoclonal antibodies specific for the native conformation. *J. Immunol. Methods*, 352, 153-160.

<学会発表>

1. 高木淳一、加藤博章：構造解析を目指した高難度組換え蛋白質生産の最前線、第10回日本蛋白質科学会年会ワークショップ（2010年6月18日 北海道）
2. 高木淳一：糖蛋白質の動物細胞発現と新規アフィニティータグシステムをもちいた1段階精製、第10回日本蛋白質科学会年会ワークショップ（2010年6月18日 北海道）
3. Junichi Takagi: Ligand binding mechanism of lipoprotein receptor family proteins revealed by three-dimensional structure analyses. Gordon Research Conference (Lipoprotein metabolism) (2010年6月23日 Waterville Valley, USA)

4. Junichi Takagi: Tags for easy detection, purification, and soluble expression of mammalian extracellular proteins. The Bioprocessing Summit, "Affinity Tag Protein Purification" (2010年8月24日 Boston, USA)
5. Junichi Takagi: Challenges in structural analysis of extracellular protein complexes: protein production, crystallography, and EM. Faculty Seminar, Boston University School of Medicine, Department of Physiology and Biophysics. (2010年8月25日 Boston, USA)
6. 高木淳一: 軸索ガイダンスを司るセマフォリンシグナルの構造的基盤、蛋白研セミナー・包括脳ネットワーク神経細胞プロテオミクス研究会「神経科学と構造生物学の融合」(2010年10月28日 大阪)
7. Junichi Takagi: Combination of Correlative Light-Electron Microscopy and X-ray Crystallography Revealed a Unique Trans-Synaptic Adhesion Architecture. The 2010 Asian Crystallographic Association Conference (AsCA2010), Minisymposium "Combining Methods/New Tools in Structural Biology" (2010年11月2日 Busan, South Korea)
8. Junichi Takagi: Structural basis for semaphorin signaling through the plexin receptor. International GCOE Symposium: Morphogenesis and Signaling -From Proteins, Organelles to Organisms- (2010年11月9日 兵庫)
9. 高木淳一: セマフォリンシグナルを伝達するプレキシシン受容体活性化の構造的基盤、平成23年度細胞外環境シンポジウム(2011年2月16日)