

# Key points for KAKENHI proposal writing

2016/ 7/ 25

Ikuko FUJIWARA, Ph.D  
Assistant Professor,  
Nagoya Institute of Technology (NITech), Japan



# About me

- Ph.D in Biophysics
- Posdoc at Yale University
- Research fellow at NHLBI in NIH (National Institutes of Health), USA
- Assist. Prof. at iCeMS, Kyoto University
- Assist. Prof. at University Research Administration (URA) office, Nagoya Institute of Technology
- 17 Publications (Nature Cell Biol., PNAS, etc. Collaboration works are published in Science, Cell etc.)

## One of my Work is;

- Grant writing supports
  - KAKENHI Kiban-C and Wakate B proposals in 2015 : 5 approval in 6 total.
  - Research funding proposal in 2015-2016 : 13 approval in 18 total.

# Top 30% is good enough

Do not need to be NO.1!

However, your proposal must be categorized as “great”

**Find your KAKENHI research area (i.e. right market)**

Research target

(find the best match by analyzing  
previously approved titles)

# of proposal / area

(your proposal may be reviewed  
more carefully at categories having  
only 100 proposals)

# Top 30% is good enough

Do not need to be NO.1!

However, your proposal must be categorized as “great”

**Find your KAKENHI research area (i.e. right market)**

Research target

(find the best match by analyzing  
previously approved titles)

# of proposal / area

(your proposal may be reviewed  
more carefully at categories having  
only 100 proposals)

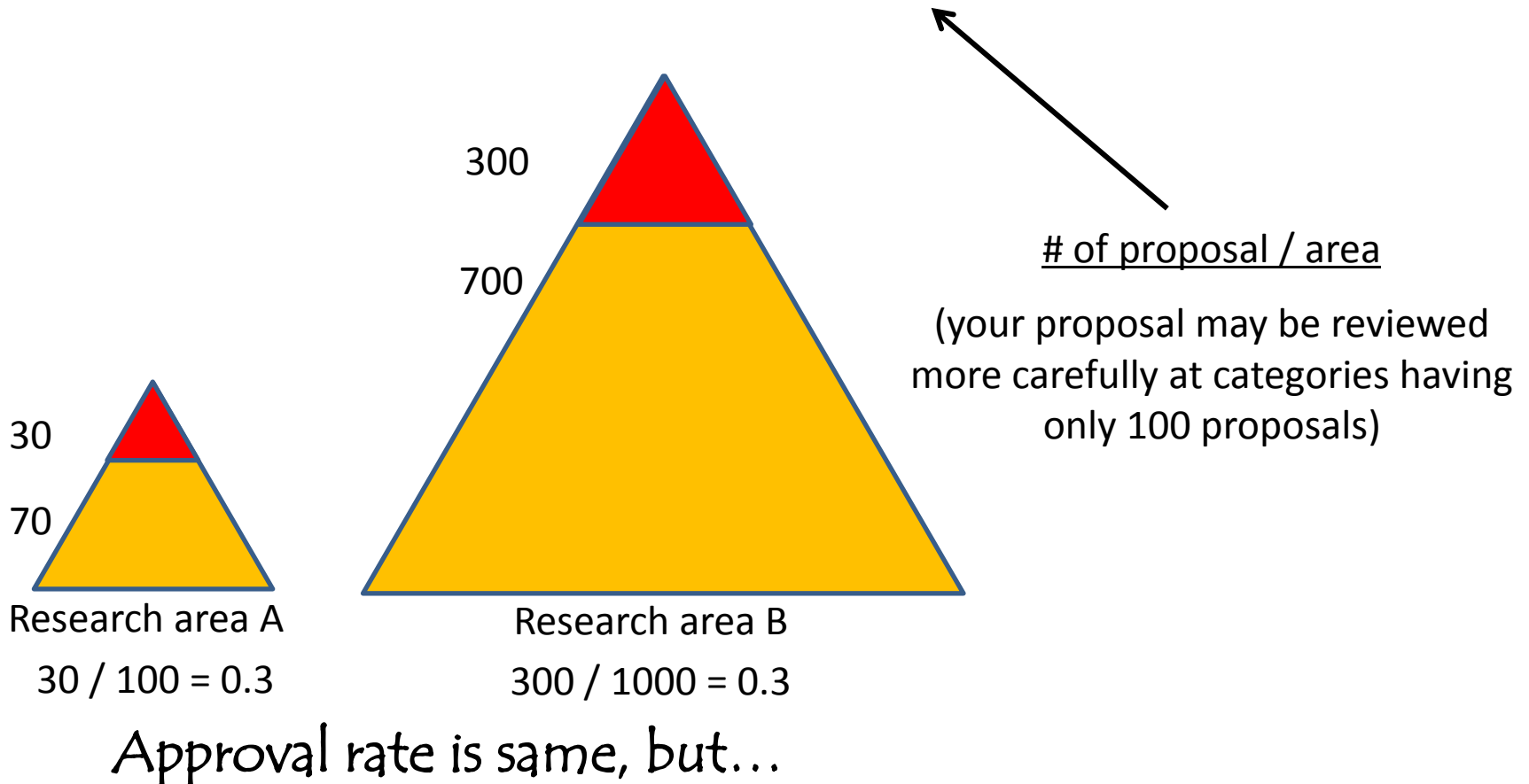


# Top 30% is good enough

Do not need to be NO.1!

However, your proposal must be categorized as “great”

Find your KAKENHI research area (i.e. right market)



# Think about “readers”

## - Reviewers are busy! -

In 2015, each reviewer checked about 70 proposals within 40 days (For Kiban A/B/C, Wakate A/B).

引用元: [http://www.rprc.hirosaki-u.ac.jp/~gakunai/suishin/kaken/setumeikai/h24/240723\\_03.pdf](http://www.rprc.hirosaki-u.ac.jp/~gakunai/suishin/kaken/setumeikai/h24/240723_03.pdf)

○ 第1段審査	
・審査委員数	5, 500名
・審査期間	40日間
・1人当審査件数	<u>平均約70件</u> (最高149件)



### Comments from reviewers

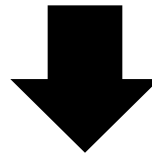
- Clear and short statements helped to understand points in a limited time
- Describing differences with similar research help to compare assessments
- First impression is important because I sort proposals into 3 categories (good, ok, poor) by brief reading, while I read repeatedly for more fine screening.

# To be reviewed as “Excellent”, consider **Evaluation Criteria**

Applied for Kiban A, B and C, and Wakate A and B for 1<sup>st</sup> peer review

1. Academic importance and adequacy of the research project
2. Adequacy of research plan and methods
3. Originality and innovativeness of the research project
4. Ripple effects and generality of the research project
5. Ability to conduct research and appropriateness of the research environment
6. Relationship between research plans and research themes undergoing progress evaluation

*Ref: [https://www.jsps.go.jp/j-grantsinaid/01\\_seido/03\\_shinsa/data/h26/h26\\_tebiki01\\_dai1.pdf](https://www.jsps.go.jp/j-grantsinaid/01_seido/03_shinsa/data/h26/h26_tebiki01_dai1.pdf)*



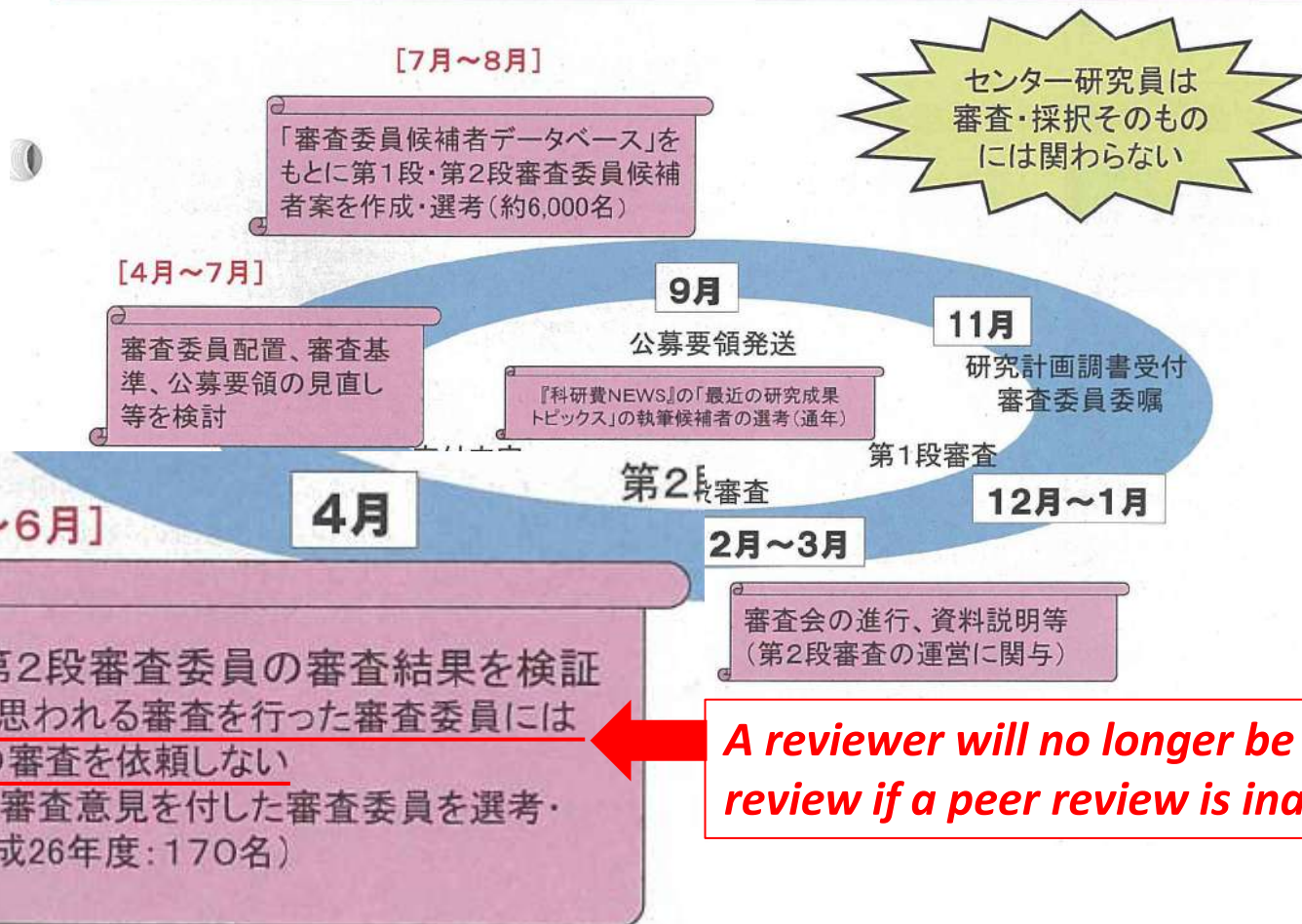
*Based on these criteria, think below*

**Keep in your  
mind!**

1. Clear research vision = What do you decipher?
2. Research keywords = Impact to the society and/or field
3. Significance of your research = Position of your research in the field

# Reviewers are also judged!

## 学術システム研究センターの科研費に関する主な役割



**Your proposal must give confidence to reviewers such as “I was right to pick this proposal”.**



# What should we do to get a high score by making reviewers confident?

*Utilize certain keywords in your proposal*

*Keywords = support reviewer's decision*

**KAKENHI proposals are screened based on how reviewers feel.**

(FYI)

Grants-in-Aid for Scientific Research are intended to significantly develop all scientific research (**research based on the free ideas** of the researcher), from basic to applied research in all fields, ranging from the humanities and the social sciences to the natural sciences. The grants provide financial support for **creative and pioneering research** projects that will **become the foundation of social development**.

(Ref: MEXT [http://www.mext.go.jp/b\\_menu/shingi/gijyutu/gijyutu4/toushin/attach/1337880.htm](http://www.mext.go.jp/b_menu/shingi/gijyutu/gijyutu4/toushin/attach/1337880.htm))



**Key is “Academic research statement +impact”**

Tips to give confidence

# What are the impact words in titles?

S1: Creating a Building Code for Medical Device Software Security

S2: Vibration-based Secure Side Channels for Implantable and Wearable Medical Devices

S3: Investigating the Mechanics of Cell Division with A Side-View Atomic Force Microscopy

**Add meaningful words to make reviewers excited and discernable**

Easy to guess your research

+

government strategies, obvious necessity and next-generation etc.

+

Name of proteins, samples approaches

# Purpose of the research (Outline)

## Before

## After

様式 S-1-13 応募内容ファイル (添付ファイル項目)

若手 (B) - 1

**研究目的**

本欄には、研究の全体構想及びその中で本研究の具体的な目的について、簡潔にその概要を簡潔にまとめて記述した上で、適宜文献を引用しつつ記述し、特に次の点については、焦点を絞り、具体的かつ明確に記述してください (記述に当たっては、「科学研究費助成事業における審査及び評価に関する規程」(公募要綱 7.0 頁参照) を参考にしてください)。

① 研究の学術的意義 (本研究に関連する国内・国外の研究動向及び位置づけ、応募者のこれまでの研究成果を踏まえ着想に至った経緯、これまでの研究成果を発展させる場合にはその内容等)

② 研究期間内に何をどこまで明らかにしようとするのか

③ 当該分野における本研究の学術的な特色・独創的な点及び予想される結果と意義

**研究目的 (概要)** ※ 当該研究計画の目的について、簡潔にまとめて記述してください。

アクチンは細胞内において細胞の骨格として働くたんぱく質である。申請者はアクチン結合タンパク質である Capping Protein (CP) と、その結合タンパク質 CARMIL がアクチン重合に与える影響を 1 分子 Kinetics 解析から明らかにする。特に CARMIL が CP に結合・制御する際、各結合部位の役割を遺伝子変異体を用いて明らかにするとともに、全長 CARMIL 自身の折れ畳み・展開による OFF・ON 状態を、その制御タンパク質の機能と共に明らかにする。

This is like a memo...

Too much explanation of scientific words. Where is the point?

様式 S-1-13 応募内容ファイル (添付ファイル項目)

若手 (B) - 1

**研究目的**

本欄には、研究の全体構想及びその中で本研究の具体的な目的について、簡潔にその概要を簡潔にまとめて記述した上で、適宜文献を引用しつつ記述し、特に次の点については、焦点を絞り、具体的かつ明確に記述してください (記述に当たっては、「科学研究費助成事業における審査及び評価に関する規程」(公募要綱 7.0 頁参照) を参考にしてください)。

① 研究の学術的意義 (本研究に関連する国内・国外の研究動向及び位置づけ、応募者のこれまでの研究成果を踏まえ着想に至った経緯、これまでの研究成果を発展させる場合にはその内容等)

② 研究期間内に何をどこまで明らかにしようとするのか

③ 当該分野における本研究の学術的な特色・独創的な点及び予想される結果と意義

**研究目的 (概要)** ※ 当該研究計画の目的について、簡潔にまとめて記述してください。

細胞内でのアクチン重合の調節機能を理解するため、アクチン結合タンパク質 Capping Protein (CP) と、その結合タンパク質 CARMIL L (Capping protein, Arp2/3 and Myosin-I Linker) がアクチン重合に与える影響を 1 分子レベルで解明する。本申請についての具体的な目的は下記 2 つである；

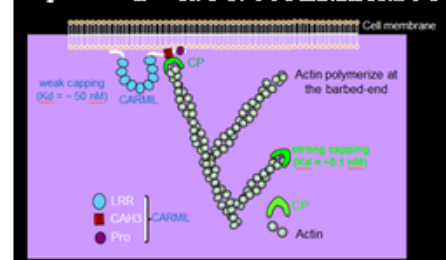
1. CARMIL が CP に結合する際の各結合部位の制御機構を遺伝子変異体を用いて明らかにする。
2. 全長 CARMIL 自身の展開・折れ畳みによる ON・OFF 機能とアクチン重合調節の関係を明らかにする。

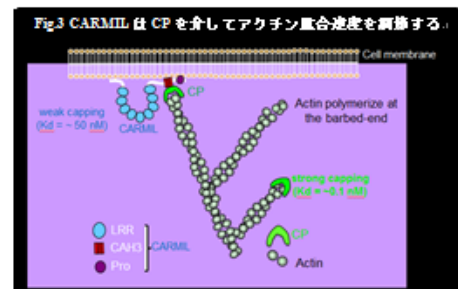
Itemize your each purpose  
(Note: Short statement is better)

Not explain scientific words. Deliver minimum and sufficient message (i.e. your goal, keywords, methods etc)

This section is for the brief message to reviewers.

(Includes points to decipher, importance and so on. Do not go too deep, because not all reviewers are from exactly same research fields.)







**Too much of blank space.  
Arrange the entire layout.**

# Purpose of the research

After

様式 S-1-13 応募内容ファイル (添付ファイル項目)

若手 (B) - 1

## 研究目的

本書には、研究の全体的な目的及びその中で本研究の具体的な目的について、簡潔にその概要を述べ、要約して記述した上で、重要な結果を引用しつつ記述し、特に次の点については、簡潔かつ明確に記述してください (記述に当たっては、「科学的研究費助成事業における審査及び採択に関する指針」(公募要綱T000000)を必ずしも守ってください)。

- ① 研究の学術的重要性 (本研究に関連する国内・国外の研究動向及び位置づけ、応募者のこれまでの研究成果を踏まえ、今後の展望、これまでの研究成果を踏まえ、今後の展望に示すこと)
- ② 研究計画内に何をどこまで明らかにしようとするのか
- ③ 当該分野における本研究の学術的な特色・独創的な点及び予想される効果と意義

## 研究目的 (概要) ※ 当該研究計画の目的について、簡潔に要約して記述してください。

細胞内でのアクチン重合の調節機能を理解するため、アクチン結合タンパク質 Capping Protein (CP) と、その結合タンパク質 CARMIL (Capping protein, ARp2/3 and Myosin-I Linker) がアクチン重合に与える影響を 1 分子レベルで解明する。本申請についての具体的な目的は下記 2 つである。

1. CARMIL が CP に結合する際の各結合部位の制御機構を遺伝子変異体を用いて明らかにする。
2. 全長 CARMIL 自身の展開・折り畳みによる ON・OFF 機能とアクチン重合調節の関係を明らかにする。

## 【研究の学術的重要性】

アクチンは細胞の骨格として、モノマーとポリマーの 2 状態を繰り返して機能する。このアクチン細胞骨格のメカニズムを解明し応用するには、アクチン重合ダイナミクスとアクチン調節タンパク質の動作原理の理解が必須である。本研究は、アクチンフィラメントの端で 2 種以上のタンパク質が連続して作用するメカニズム (Fig.1) を明らかにしてゆく。しかし、溶液系 (多数のタンパク質が混在した中で反応を計測する系) では、この連続した反応の解明は Caged など化学修飾を行っても難しい。しかし、本研究の特色である 1 分子 Kinetics 計測という手法を用いると、タンパク質 1 個の挙動を実時間で直視できるため、溶液系では判別できない連続反応の Kinetics が測定でき、アクチン細胞骨格の動作原理を理解するという重要な学術的課題に貢献できる。

## 【研究の背景】

〜アクチンの重合はどのように制御されているのか?〜

CP (Capping Protein) は、アクチンフィラメントの一端を塞ぐように結合することで、更なるアクチンが結合してフィラメントが伸張されることを阻害するタンパク質である (Fig.1)。この機能は、強固な細胞骨格の土台として必須の「多数の短いアクチンフィラメントの形成」に必要である。CP は *in vitro* ではアクチンフィラメントに強く結合し 30 分間も解離しないが、細胞内においてはわずか 1 秒間で解離する (Miyoshi et al., 2006)。この解離時間の不一致は、細胞内に CP の解離を促進する制御機構があることを示唆する。事実、*in vitro* で CP 結合タンパク質 CARMIL (Capping protein, ARp2/3 and Myosin-I Linker) のフラグメント CAH3 を添加するとアクチンフィラメントの伸張が回復された (Yang et al., 2005; Urano et al., 2006)。申請者は 1 分子蛍光顕微鏡から GFP-CP の解離が 200 倍 (30 分から 10 秒) も促進される Uncapping を直視 (Fujiwara et al., 2010) し、更に、CARMIL を結合した CP は弱いながらもまたアクチンフィラメントをキャップする機能 (Weak Capping) を保持していることを明らかにした (Fujiwara et al., PNAS, 2014)。

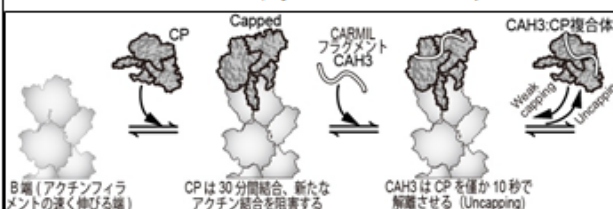


Fig.1 CARMIL フラグメント CAH3 は CP に結合し、早く解離させてアクチン重合を再開させることができる (Uncapping)。CAH3-CP 複合体は、再びアクチンに結合できるが非常に弱い (Weak Capping)。

若手 (B) - 2

## 研究目的 (つづき)

### 【第 1 プロジェクトの目的】

近年、CARMIL の CP 結合部位 CAH3 の約 1/3 にあたる 32 残基に似たアミノ酸配列を含むタンパク質 3 つ (CD2AP, CIN85, CKIP-1) が、CARMIL ファミリーとして同定された。これらはエンドサイトーシス・細胞接着や免疫細胞のシグナル伝達後の形態変化に関与するため、CP が伸介するアクチン細胞骨格の新たな制御機構の存在が注目されている。現在まで、遺伝子改変した CARMIL ファミリーのフラグメントを用いて、結合定数の強弱と構造変化の調査・シミュレーションが行われた (Hernandez-Valladares M. et al., 2010; Takeda et al., 2010; Lukman et al., 2012)。しかし、アクチンからの解離を速める分子機構を 1 分子レベルで検証した研究をはじめ、アクチン伸張の制御に直接関与する「Uncapping・Weak capping」の機構との相関、また CP との結合を安定化させるための CARMIL 上の第 2 の結合部位を含めたダイナミクスは、今だ解明されていない。そこで、

第 1 の目的として、遺伝子改変した CP (Capping Protein) と CP の制御タンパク質 CARMIL (Capping protein, ARp2/3 and Myosin-I Linker) を用い、CARMIL が CP を制御する際に各結合部位が果たす役割を明らかにする (H27 年中に実験終了。H28 年初めに投稿計画)。

### 【第 2 プロジェクトの目的】

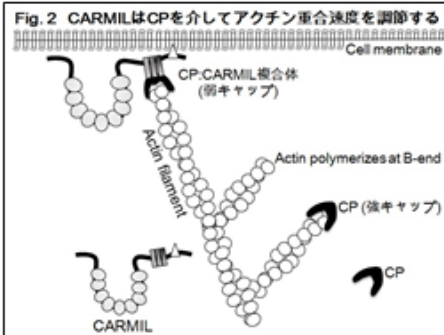
CARMIL は全長 153 kDa の大きな膜結合タンパク質 (Fig.2) で、PIP2 結合部位、WH2 ドメイン、CRIB ドメイン等、他のタンパク質が結合できるドメインを複数持つ。そのドメインの配置から CARMIL は必要時以外では自身を折り畳み OFF 状態 (不活性化) している可能性が強く示唆される。現在までに全長 CARMIL の精製は *Acanthamoeba* と *Dictyostelium* で成功している (Jung et al., 2002; Yang et al., 2005; Urano et al., 2006)。しかし、哺乳類の全長 CARMIL を用いた生化学実験は 1 報のみで、その 1 報も実際の生化学データは殆ど示されておらず (Yang et al., 2005)。全長 CARMIL の機能の多くが不明である。構造解析においても、CARMIL の N 末端から半分までのアミノ酸までは行われたが、全長については未解明である (Zwolak et al., 2013)。そこで、

第 2 の目的を、全長 CARMIL の ON・OFF というスイッチ機構と、それに関する制御タンパク質の相関を明らかにする。また、これらの制御がアクチン重合に与える機構を明らかにする (H28 年度末に論文投稿を目指す)。

申請者は、既に以前所属先である NIH において Dr. John Hammer と共に全長 CARMIL の精製を試み、80% までその精製度を上げてきている。加えて、試験的データではあるが、Ras タンパク質を加えると CARMIL が ON 状態となることを導き出している。

### 【学術的な波及効果】

本年、糸状仮足の先端に VASP や Formin が存在していることが報告された (Bazilek et al., 2014)。反して CARMIL は、むしろ葉状仮足形成 (Fig.2) に関与していることが申請者らの報告からも強く示唆される (Fujiwara et al., PNAS, 2014)。ゆえに、創傷治癒時の葉状仮足の制御機構の解明という医学的はもちろん、糸状仮足と葉状仮足の機能の違いをタンパク質レベルで理解するという細胞生物・生物物理学の見地からも、CP と CARMIL によるアクチン制御メカニズムを理解することは非常に重要である。



# Purpose of the research

After

様式 S-1-13 応募内容ファイル (添付ファイル項目)

若手 (B) - 1

## 研究目的

本書には、研究の全米議及及びその中で本研究の具体的な目的について、簡潔にその概要を述べ、要約して記述した上で、重要な結果を引用しつつ記述し、特に次の点については、簡潔かつ明確に記述してください (記述に当たっては、「科学的研究費助成事業」における審査及び採択に関する趣旨 (公募要領 1.0 版) を必ず読んでください)。

- ① 研究の学術的重要性 (本研究に関連する国内・国外の研究動向及び位置づけ、応募者のこれまでの研究成果を踏まえ、期待される成果、これらまでの研究成果を踏まえ、期待される成果)
- ② 研究計画内に何をどこまで明らかにしようとするのか
- ③ 当該分野における本研究の学術的な特色・独創的な点及び予想される成果と意義

## 研究目的 (概要) ※ 当該研究計画の目的について、簡潔に要約して記述してください。

細胞内でのアクチン重合の調節機能を理解するため、アクチン結合タンパク質 Capping Protein (CP) とその結合タンパク質 CARMIL L (Capping protein, Arp2/3 and Myosin-I Linker) がアクチン重合に与える影響を 1 分子レベルで解明する。本申請についての具体的な目的は下記 2 つである。

1. CARMIL が CP に結合する際の各結合部位の制御機構を遺伝子変異体を用いて明らかにする。
2. 全長 CARMIL 自身の展開・折り畳みによる ON・OFF 機能とアクチン重合調節の関係を明らかにする。

## 【研究の学術的重要性】

アクチンは細胞の骨格として、モノマーとポリマーの平衡を制御する。アクチン細胞骨格のメカニズムを解明し応用するには、タンパク質の動作原理の理解が必須である。本研究は、タンパク質が連続して作用するメカニズム (Fig.1) を明らかにしてゆく。しかし、溶液系 (多数のタンパク質が混在した中で反応を計測する系) では、連続した反応の解明は Caged など化学修飾を行っても難しい。しかし、本研究の特色である 1 分子 Kinetics 計測という手法を用いれば、タンパク質 1 個の挙動を長時間で直視できるため、溶液系では判別できない連続反応の Kinetics が測定でき、アクチン細胞骨格の動作原理を理解するという重要な学術的課題に貢献できる。

## 【研究の背景】

〜アクチンの重合はどのように制御されているのか?〜

CP (Capping Protein) は、アクチンフィラメントの一端を塞ぐように結合することで、更なるアクチンが結合してフィラメントが伸張されるのを阻害する。この機能は、強い細胞骨格の土台として必須の「多量 CP は *in vitro* ではアクチンフィラメントを閉鎖するが、*in vivo* ではアクチン重合を促進する」という特徴がある。CP は 1 秒間で解離する (Miyoshi et al., 2006)。CP は 1 秒間で解離する (Miyoshi et al., 2006)。CP は 1 秒間で解離する (Miyoshi et al., 2006)。

CP (Capping Protein) は、アクチンフィラメントの一端を塞ぐように結合することで、更なるアクチンが結合してフィラメントが伸張されるのを阻害する。この機能は、強い細胞骨格の土台として必須の「多量 CP は *in vitro* ではアクチンフィラメントを閉鎖するが、*in vivo* ではアクチン重合を促進する」という特徴がある。CP は 1 秒間で解離する (Miyoshi et al., 2006)。

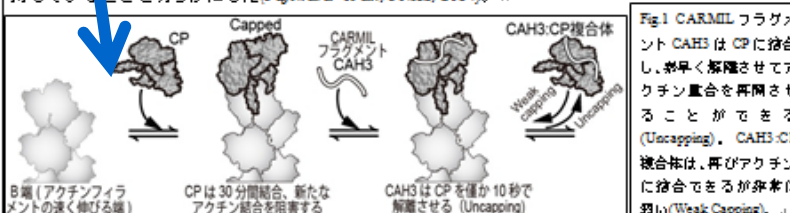


Fig.1 CARMIL フラグメント CAH3 は CP に結合し、早く解離させてアクチン重合を再開させることができる (Uncapping)。CAH3-CP 複合体は、再びアクチンに結合できるが非常に弱い (Weak Capping)。

若手 (B) - 2

## 研究目的 (つづき)

### 【第 1 プロジェクトの目的】

近年、CARMIL の CP 結合部位 CAH3 の約 1/3 にあたる 32 残基に似たアミノ酸配列を含むタンパク質 3 つ (CD2AP, CIN85, CKIP-1) が、CARMIL ファミリーとして同定された。これらはエンドサイトーシス・細胞接着や免疫細胞のシグナル伝達後の形態変化に関与するため、CP が仲介するアクチン細胞骨格の新たな制御機構の存在が注目されている。現在まで、遺伝子変化した CARMIL ファミリーのフラグメントを用いて、結合定数の強弱と構造変化の調査・シミュレーションが行われた (Hernandez-Villalobos M. et al., 2010, Takeda et al., 2010, Lukman et al., 2012)。しかし、アクチンからの解離を速める分子機構を 1 分子レベルで検証した研究をはじめ、アクチン伸張の制御に直接関与する「Uncapping・Weak capping」の機構との相関、また CP との結合を安定化させるための CARMIL 上の第 2 の結合部位を含めたダイナミクスは、今だ解明されていない。そこで、

第 1 の目的として、遺伝子変化した CP (Capping Protein) と CP の制御タンパク質 CARMIL (Capping protein, Arp2/3 and Myosin-I Linker) を用い、CARMIL が CP を制御する際に各結合部位が果たす役割を明らかにする (H27 年中に実験終了。H28 年初めに投稿計画)。

### 【第 2 プロジェクトの目的】

CARMIL は全長 153 kDa の大きな膜結合 CRIB ドメイン等、他のタンパク質が結合する CARMIL は必要時以外では自身を折り畳み、現在までに全長 CARMIL の精製は Amano et al., 2005, Urano et al., 2006)。しか、その 1 報も実際の生化学データは、能力の多くが不明である。構造解析において行われたが、全長については未解明である (Zwolak et al., 2013)。そこで、

第 2 の目的を、全長 CARMIL の ON・OFF というスイッチ機構と、それに関する制御タンパク質の相関を明らかにする。また、これらの制御がアクチン重合に与える機構を明らかにする (H28 年度末に論文投稿を目指す)。

申請者は、既に以前の所属先である NIH において Dr. John Hammer と共に全長 CARMIL の精製を試み、80% までその精製度を上げてきている。加えて、試験的データではあるが、Ras タンパク質を加えると CARMIL が ON 状態となることを確認している。

### 【学術的な波及効果】

本年、糸状足先端に VASP や Formin が存在していることが報告された (Bazile et al., 2014)。反して CARMIL は、むしろ葉状足形成 (Fig.2) に関与していることが申請者の報告からも強く示唆される

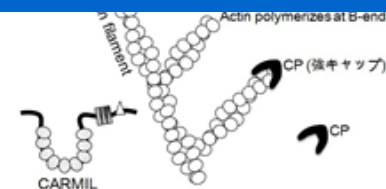
Write down how your research contributes to your research fields and/or society.

アクチン制御メカニズムを理解することは非常に重要である。

Use space effectively

Emphasize the purpose by rephrasing same words in outline to keep the consistency, then write more detail.



Inform that you have preliminary data or similar. This tells your proposal is solid.



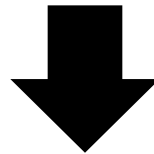


# To be reviewed as “Excellent”, consider **Evaluation Criteria**

Applied for Kiban A, B and C, and Wakate A and B for 1<sup>st</sup> peer review

- 
- 
1. Academic importance and adequacy of the research project
  2. Adequacy of research plan and methods
  3. Originality and innovativeness of the research project
  4. Ripple effects and generality of the research project
  5. Ability to conduct research and appropriateness of the research environment
  6. Relationship between research plans and research themes undergoing progress evaluation

*Ref: [https://www.jsps.go.jp/j-grantsinaid/01\\_seido/03\\_shinsa/data/h26/h26\\_tebiki01\\_dai1.pdf](https://www.jsps.go.jp/j-grantsinaid/01_seido/03_shinsa/data/h26/h26_tebiki01_dai1.pdf)*



*Based on these criteria, think below*


**Keep in your  
mind!**

1. Clear research vision = What do you decipher?
2. Research keywords = Impact to the society and/or field
3. Significance of your research = Position of your research in in the field

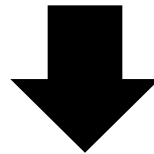
Fig. 3 研究体制図

# To be reviewed as “Excellent”, consider **Evaluation Criteria**

Applied for Kiban A, B and C, and Wakate A and B for 1<sup>st</sup> peer review

- 
1. Academic importance and adequacy of the research project
  2. Adequacy of research plan and methods
  3. Originality and innovativeness of the research project
  4. Ripple effects and generality of the research project
  5. Ability to conduct research and appropriateness of the research environment
  6. Relationship between research plans and research themes undergoing progress evaluation

*Ref: [https://www.jsps.go.jp/j-grantsinaid/01\\_seido/03\\_shinsa/data/h26/h26\\_tebiki01\\_dai1.pdf](https://www.jsps.go.jp/j-grantsinaid/01_seido/03_shinsa/data/h26/h26_tebiki01_dai1.pdf)*



*Based on these criteria, think below*

**Keep in your  
mind!**

1. Clear research vision = What do you decipher?
2. Research keywords = Impact to the society and/or field
3. Significance of your research = Position of your research in in the field

# Research plan and method

After

若手 (B) - 3

研究計画・方法

Itemize your plans so readers easily understand.

Briefly mention methods and each goal.

① 遺伝子変異体を用い、蛍光分光器による溶液実験、電気泳動法による Pull-down assay と ITC を用いた K<sub>d</sub> 測定、TIRF による 1 分子観察・Kinetics 解析を行う。これらの実験により、CARMIL による CP 制御に関与する各結合部位の持つ役割を明らかにする (H27 年度内に発表予定)。

② 精製された全長 CARMIL とその調節タンパク質を用い (Dr. John Hamer, NIH との共同研究) 上記で示された各生化学実験と 1 分子顕微鏡・Kinetics 解析を行う。この実験により、全長 CARMIL の ON・OFF 機構が、Ras などによって制御される機構を明らかにする (H28 年度末までに論文発表を目標とする)。

③ 全長 CARMIL の形を決定するため、電子顕微鏡 (rotary shadow) による観察を行う。

④ Ras, PIP2 などの CARMIL 調節タンパク質によって CARMIL が常に同じように活性化されるかどうかを明らかにするため、Pull-down アッセイによって全長 CARMIL と CP との結合解離定数の変化を測定する。

⑤ 上記の結合解離定数の変化がアクチン重合に与える変化を理解するため、溶液系と 1 分子計測の両方を行い、比較・考察する。

⑥ CARMIL ファミリーの一つである CIN85 も用いたい。CARMIL と CIN85 の機能を比較することにより、生体内で CARMIL が葉状仮足に多く存在し、CIN85 がエンドサイトーシス時にのみ多く局在する違いを検討することを期待している。

更に、より進んだ成果を求め、生物物理で培われた技術を用いて、他分野の研究者と協力してアクチン重合機能が関与した細胞運動メカニズムの解明のための新たな切り口を模索する。

【研究計画を遂行するための研究体制】

CP などアクチン結合タンパク質とアクチン重合の機能を *in vitro* で研究する分野において、主な手法は蛍光分光光度計である。申請者諸者は研究総括として、今までの知見を活かして総合的な XXXX を行う。

共同研究者 A は蛍光分光光度計を用いた分析で多くの実績を持ち、本連携において、XXXX を速度反応論的に明らかにしていく。

共同研究者 B は、そのアプローチの改良版

本研究は、現在活発に行われ

読み取る装置開発を通して

骨密度低下の早期対応を可能にするという点からも、今後の医療において重要な意義を持つ。

Fig. 3 研究体制図

これらの結果を総合的に解析し、CARMIL が CP をアクチンフィラメントから解離させる機構を明らかにしていく。

若手 (B) - 4

研究計画・方法 (つづき)

平成 28 年度  
【全長 CARMIL 精製、そして CARMIL 自身の展開・折れ畳みによる ON・OFF 機能とその制御タンパクとの相関を、アクチン重合調節の機能をあわせて明らかにする】

他の哺乳類の細胞、特に HEK293 を用いると、精製度の高い全長 CARMIL を得ることができた。この手法を改良し、精製された全長 CARMIL を用いて ON・OFF というスイッチ機構を明らかにする。さらに、葉状仮足の先端部分で CARMIL が CP を介してアクチン重合を制御するメカニズムをアクチンフィラメント 1 本をアクチン重合・計測する。実時間直視・計測する。調節タンパク質である Ras が追加を得ている。

① 全長 CARMIL の形を決定するため、電子顕微鏡 (rotary shadow) による観察を行う。

② Ras, PIP2 などの CARMIL 調節タンパク質によって CARMIL が常に同じように活性化されるかどうかを明らかにするため、Pull-down アッセイによって全長 CARMIL と CP との結合解離定数の変化を測定する。

③ 上記の結合解離定数の変化がアクチン重合に与える変化を理解するため、溶液系と 1 分子計測の両方を行い、比較・考察する。

④ CARMIL ファミリーの一つである CIN85 も用いたい。CARMIL と CIN85 の機能を比較することにより、生体内で CARMIL が葉状仮足に多く存在し、CIN85 がエンドサイトーシス時にのみ多く局在する違いを検討することを期待している。

更に、より進んだ成果を求め、生物物理で培われた技術を用いて、他分野の研究者と協力してアクチン重合機能が関与した細胞運動メカニズムの解明のための新たな切り口を模索する。

【研究計画を遂行するための研究体制】

CP などアクチン結合タンパク質とアクチン重合の機能を *in vitro* で研究する分野において、主な手法は蛍光分光光度計である。申請者諸者は研究総括として、今までの知見を活かして総合的な XXXX を行う。

共同研究者 A は蛍光分光光度計を用いた分析で多くの実績を持ち、本連携において、XXXX を速度反応論的に明らかにしていく。

共同研究者 B は、そのアプローチの改良版

本研究は、現在活発に行われ

読み取る装置開発を通して骨密度低下の早期対応を可能にするという点からも、今後の医療において重要な意義を持つ。

Fig. 3 研究体制図

これらの結果を総合的に解析し、CARMIL が CP をアクチンフィラメントから解離させる機構を明らかにしていく。

Time schedule to show your research plan is practical and achievable.

Clarify each role of collaborators

International collaboration is preferred.

# Research Activities

Before

右手 (B) - 6

研究業績 (つづき)
2011 なし
2010 【論文】 Kitajiri, S., Sakamoto, T., Belyantseva, A., I., Goodyear, J.R., Stepanyan, R., <b>Fujiwara, I.</b> , Bird, E.J., Riazuddin, S., Riazuddin, S., Ahmed, M. Z., Hinshaw, E. J., Sellers, J., Bartles, R. J., Hammer A. J., Richardson, P. G., Griffith J., A., Frolenkov, I. G., and Friedman, B., T., “TRIOBP Bundles Actin Filaments to Form Rootlets and Stiffens Stereocilia of Inner Ear Hair Cells.” <i>Cell (カバー)</i> , 141, 786-798. <b>Fujiwara, I.</b> , Remmert, K and Hammer, A.J. “Direct observation of the uncapping of capping protein-capped actin filaments by CARMIL homology domain 3.” <i>J Biol Chem.</i> 4, 2707-2720. Zwolak, A., <b>Fujiwara, I.</b> , Hammer A. J., and Tjandra, N. “Structural basis for capping protein sequestration by myotrophin (V-1).” <i>J Biol Chem.</i> 285, 25767-25781.

Minimize “no publication” year

Do not just copy/paste your publication list

Too many authors confuses your contribution

Unclear if it is peer reviewed

After

右手 (B) - 6

研究業績 (つづき)
【論文 2010】 10) Kitajiri, S., <b>Fujiwara, I.</b> 他 (18 名中 6 番) “TRIOBP Bundles Actin Filaments to Form Rootlets and Stiffens Stereocilia of Inner Ear Hair Cells.” <i>Cell (カバー)</i> , 141, 786-798. (2010) (査読あり) 11) <b>Fujiwara, I.</b> , Remmert, K and Hammer, A.J. “Direct observation of the uncapping of capping protein-capped actin filaments by CARMIL homology domain 3.” <i>J Biol Chem.</i> 4, 2707-2720. (2010) (査読あり) 12) Zwolak, A., <b>Fujiwara, I.</b> , Hammer A.J., and Tjandra, N. “Structural basis for capping protein sequestration by myotrophin (V-1).” <i>J Biol Chem.</i> 285, 25767-25781. (2010) (査読あり)

Add numbers on each publication (follow instruction)

Summarize authors (total number of authors and your author numbers)

Write “Peer reviewed”, if so



# State of Preparations for the Research Plan and Methods to Disseminate the Research Results to Society and Citizens

## Before

今回の研究計画を実施するに当たっての準備状況

本稿には、次の点について、焦点を絞り、具体的に明確に記す。

- ① 本研究を実施するために使用する研究施設・設備・研究協力者がある場合には、必要に応じその者を記す。
- ② 本研究の研究成果を社会・国民に発信する方法等。

① 本研究を実施するために使用する研究施設・設備・研究協力者の所属機関では、タンパク分離装置がなく、今後導入が検討されている。

② 研究分担者がいる場合には、その者との連絡調整の状況など、研究着手に向けての状況。研究分担者の XXX とは、同じ研究室の出身で常に連絡をとれる状況にあり、共同研究のための連絡は容易に取ることができる。

③ 本研究の研究成果を社会・国民に発信する方法等。学会に発表していく。所属機関付近の高校へ出前講義に行き、研究課題について若手の理解を仰ぐ。成果を積極的に新聞に載せていく。

**Irrational plan by using putative equipment (i.e. machine is not installed in your facility)**

**“I have a friend in a leading research institute” does not cralify anything**

**Don't suggest any out of control approach like, TV announcement**

## After

今回の研究計画を実施するに当たっての準備状況

本稿には、次の点について、焦点を絞り、具体的に明確に記す。

- ① 本研究を実施するために使用する研究施設・設備・研究協力者がある場合には、必要に応じその者を記す。
- ② 本研究の研究成果を社会・国民に発信する方法等。

本研究を実施する施設には、申請者が以前に居た NIH の Dr. John Hamner が既に作成しており、共同研究として申請者に分けてくださることが確約されている。研究の進捗についてもメールとビデオ会議を通じて密にコミュニケーションを取り、共に研究課題を遂行していく。

本研究の成果は学術論文で公開していくことはもちろん世界 2ヶ国 9000 人の細胞生物学者の集う国際学会 American Society of Cell Biology と、Biophysical Society という影響力の強い 2つの国際学会へ発表していく。また、名古屋工業大学上でホームページや自身のホームページも使って積極的に公開する。より多くの人々にアクチン細胞骨格の制御機構を通し、生き物について興味を持ってもらえるよう努める。

**Emphasize you already have the tool that can be a core of the research**

**Describe how to communicate with your collaborators, and their roles in your research**

**Rational meetings and/ or journals are good enough. Describe those opportunities are practical, effective and sufficient.**

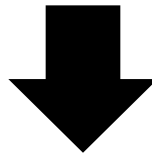
Keep your proposal in “SMART & Intelligent”

# To be reviewed as “Excellent”, consider **Evaluation Criteria**

Applied for Kiban A, B and C, and Wakate A and B for 1<sup>st</sup> peer review

1. Academic importance and adequacy of the research project
2. Adequacy of research plan and methods
3. Originality and innovativeness of the research project
4. Ripple effects and generality of the research project
5. Ability to conduct research and appropriateness of the research environment
6. Relationship between research plans and research themes undergoing progress evaluation

Ref: [https://www.jsps.go.jp/j-grantsinaid/01\\_seido/03\\_shinsa/data/h26/h26\\_tebiki01\\_dai1.pdf](https://www.jsps.go.jp/j-grantsinaid/01_seido/03_shinsa/data/h26/h26_tebiki01_dai1.pdf)



*Based on these criteria, think below*

Keep in your  
mind!

1. Clear research vision = What do you decipher?
2. Research keywords = Impact to the society and/or field
3. Significance of your research = Position of your research in in the field

# Get additional score from the budget planning

着手（日）－9 (金額単位：千円)				
設備費の明細 記入に当たっては、若手研究（B）研究計画書作成・記入要領を参照してください。			消耗品費の明細 記入に当たっては、若手研究（B）研究計画書作成・記入要領を参照してください。	
年度	品名・仕様 (数量×単価) (設置機関)	金額	品名	金額
27	なし	0	使い捨て器具 1.5, 15, 50 ml チューブ・シヤレ・ガラス器具など	200
			電気泳動用ゲル (時間短縮のため、既成ゲルを購入予定)	200
			試薬 (蛍光色素, ATP, KCl, Acetone など)	250
			カラム (GST カラム, HIS カラム, S-300 カラムとその管類)	300
			実験動物 (ウサギ, 初回のみ)	10
	計	0	計	960
28	なし	0	使い捨て器具 1.5, 15, 50 ml チューブ・シヤレ・ガラス器具など	200
			電気泳動用ゲル (時間短縮のため、既成ゲルを購入予定)	200
			試薬 (蛍光試薬, ATP, KCl など)	250
			カラム (GST カラム, D-10 カラムとそのチューブ類)	300
	計	0	計	950

Practical budget planning shows your technical ability to run your research


“Chemicals”, “instruments” and “Others” are not sufficient to show how well you can manage your project.

**A good shopping list can convince reviewers of a viable project.**

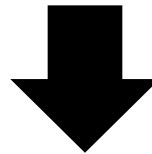


# To be reviewed as “Excellent”, consider **Evaluation Criteria**

Applied for Kiban A, B and C, and Wakate A and B for 1<sup>st</sup> peer review

- 
1. Academic importance and adequacy of the research project
  2. Adequacy of research plan and methods
  3. Originality and innovativeness of the research project
  4. Ripple effects and generality of the research project
  5. Ability to conduct research and appropriateness of the research environment
  6. Relationship between research plans and research themes undergoing progress evaluation

*Ref: [https://www.jsps.go.jp/j-grantsinaid/01\\_seido/03\\_shinsa/data/h26/h26\\_tebiki01\\_dai1.pdf](https://www.jsps.go.jp/j-grantsinaid/01_seido/03_shinsa/data/h26/h26_tebiki01_dai1.pdf)*



*Based on these criteria, think below*

**Keep in your  
mind!**

1. Clear research vision = What do you decipher?
2. Research keywords = Impact to the society and/or field
3. Significance of your research = Position of your research in in the field

# “SMART” proposal

Keep clear milestones in your research proposals

SMART!

Specific

Measurable

Achievable

Result-Oriented

Time-Bound



+

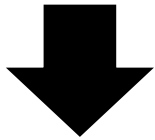
Intelligent

(Ref)「起きていることはすべて正しい、運を戦略的につかむ、勝間式4つの技術」(勝間和代著、ダイヤモンド社 他)  
「研究資金獲得法～研究者・技術者・ベンチャー起業家～」(塩満典子・室伏きみ子著、丸善出版社)

# Try first!

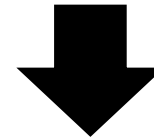
Otherwise your proposal will never get a chance to be approved.

Make a “hot” look



Ask your friend to take a look  
for 3 min, then get their feedback.

Make “hot” contents



- Check trends from recent KAKENHI proposals
- Think of readers (Keep in your mind the peer review systems)
- Find your guru (Get tips from a PI who has reviewed KAKENHI a lot)

**Do not give up!**

KAKENHI is one of the best financial supports to your research in Japan.

# Acknowledgement

- Taketo Tsugehara, Kyoto University
- Noriko Shiomitsu, Nishina Center for Accelerator-Based Science
- Timothy F. Day, National Institute for Basic Biology
- Matthieu Py, Euraxess
- Kotaro Kodera, JSPS
- Members in URA office, NITech