

平成22年度科学研究費補助金実績報告書（研究実績報告書）

1. 機関番号

1	4	6	0	3
---	---	---	---	---

 2. 研究機関名 奈良先端科学技術大学院大学
3. 研究種目名 新学術領域研究 4. 研究期間 平成20年度～平成24年度
5. 課題番号

2	0	1	0	7	0	0	6
---	---	---	---	---	---	---	---
6. 研究課題名 天然変性蛋白質のモデル系開発と揺らぎと構造形成関連の解析

7. 研究代表者

研究者番号								研究代表者名		所属部局名		職名
3	0	1	5	0	2	5	4	カタオカ	ミキオ	物質創成科学研究科		教授
								片岡	幹雄			

8. 研究分担者(所属研究機関名については、研究代表者の所属研究機関と異なる場合のみ記入すること。)

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

下欄には、当該年度に実施した研究の成果について、その具体的内容、意義、重要性等を、交付申請書に記載した「研究の目的」、「研究実施計画」に照らし、600字～800字で、できるだけ分かりやすく記述すること。また、国立情報学研究所でデータベース化するため、図、グラフ等は記載しないこと。

天然変性蛋白質の共役した結合と折り畳みの分子機構を理解することは、標的認識機構や天然変性蛋白質の生理的意義の理解に直結し、揺らぎと機能の関係を理解するために本質的である。本研究においては、SNaseやDHFR等の機能性蛋白質を用いて、天然変性蛋白質のモデル系となる変異体を系統的に作製し、共役した結合と折り畳みの分子機構を解明し、構造形成や分子認識と揺らぎの相関を明らかにすることを目的とした。

DHFRの系統的アラニン挿入により、1)構造、酵素活性ともに失う変異体、2)構造を失うが酵素活性は保つ変異体、3)構造を保つが酵素活性を失う変異体、4)構造、活性とも保つ変異体の4種類が得られた。挿入により構造や酵素活性が失われる領域は、一次配列上で連続して現れる。これらの領域では配列の連結性が重要であり、構造形成や酵素活性に必須の相互作用を担う領域であることがわかった。これらの領域を構造エレメント、機能エレメントと名付け、蛋白質はこれらのエレメントとそれをつなぐリンカーから構成されるという新しい構築原理を提唱した。また、2)の変異体は、天然変性蛋白質のモデル系として用いることができ、阻害剤による誘導折り畳みを確認した。一方、3)の中の数種類は、活性部位と遠く離れた領域への挿入が活性を失うという予想外の結果を示した。この部位は揺らぎを制御している可能性がある。

SNaseにおいても、構造を保ったまま活性を失う変異体が数種得られた。これらの阻害剤存在下での結晶構造解析に成功した。活性部位近傍の温度因子が野生型よりも大きくなって小さくなくても活性が低下しており、活性部位近傍の揺らぎが失活に関係していることが示された。

10. キーワード

- | | | |
|-------------|------------|----------|
| (1) 天然変性蛋白質 | (2) 誘導折り畳み | (3) 分子認識 |
| (4) 変性構造 | (5) 中性子散乱 | (6) |
| (7) | (8) | |

(裏面に続く)

11.研究発表（平成22年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計（ 8 ）件 うち査読付論文 計（ 8 ）件

著者名	論文標題				
Hiroshi Nakagawa	Effect of conformational states on protein dynamical transition				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁
Biochim. Biophys. Acta	有	1804	2	0	1 0 27-33

著者名	論文標題				
Shingo Kato	Non-local interaction responsible for the tertiary structural formation of Staphylococcal nuclease				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁
Biophys. J.	有	98	2	0	1 0 678-786

著者名	論文標題				
Atsushi Tanaka	Self-Assembly and Enhanced Magnetic Properties of Three-dimensional Superlattice Structures Composed of Cube- and Sphere-Shaped EuS Nanocrystals				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁
Chem. Mat.	有	22	2	0	1 0 1776-1781

著者名	論文標題				
Shun Hirota	Cytochrome c polymerization by successive domain swapping at the C-terminal helix				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁
Proc. Natl. Acad. Sci. USA	有	107	2	0	1 0 12854-12859

著者名	論文標題				
Hiroshi Nakagawa	Percolation of hydration water as a control of protein dynamics				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁
J. Phys. Soc. Jpn	有	79	2	0	1 0 083801

著者名	論文標題				
Atsushi Tanaka	Size-controlled aggregation of cube-shaped EuS nanocrystals with magneto-optic properties in solution				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁
Langmuir	有	27	2	0	1 0 104-108

著者名	論文標題				
Rumi Shiba	Systematic alanine insertion reveals the essential regions that encode structure formation and activity of dihydrofolate reductase				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁
BIOPHYSICS	有	7	2	0	1 1 1-10

著者名	論文標題				
上久保裕生	フォトアクティブイエロープロテインの中性子結晶構造解析				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁
RADIOISOTOPES	無	59	2	0	1 0 289-297

〔学会発表〕計（33）件 うち招待講演 計（6）件

発表者名	発表標 題	
Mikio Kataoka	Effect of hydration on protein dynamics	
学会等名	発表年月日	発表場 所
Leopoldina-Symposium on the Complexity Connecting Biomolecular Structure and Solvation Dynamics (招待講演)	2010年5月26日	Bochum, Germany

発表者名	発表標 題	
萩原義久	精子由来蛋白質IZUMO, その構造と受精膜融合での役割	
学会等名	発表年月日	発表場 所
第10回日本蛋白質科学会年会	2010年6月18日	札幌市

発表者名	発表標 題	
芝るみ	網羅的アラニン挿入変異解析法を用いたジヒドロ葉酸還元酵素の機能発現及び構造形成領域の抽出	
学会等名	発表年月日	発表場 所
第10回日本蛋白質科学会年会	2010年6月16日	札幌市

発表者名	発表標 題	
Mikio Kataoka	Effect of hydration water on protein dynamics	
学会等名	発表年月日	発表場 所
The 4th Shanghai International Conference on Biophysics and Molecular Biology (招待講演)	2010年8月10日	Shanghai-Jiashan, China

発表者名	発表標 題	
Hiroki Sawada	The effect of alanine insertion mutation for folding process.	
学会等名	発表年月日	発表場 所
The 4th Shanghai International Conference on Biophysics and Molecular Biology	2010年8月9日	Shanghai-Jiashan, China

発表者名	発表標 題	
Rumi Shiba	Extraction of the regions encoded foldability and/or functionability from dihydrofolate reductase by the systematic alanine insertion	
学会等名	発表年月日	発表場 所
The 4th Shanghai International Conference on Biophysics and Molecular Biology	2010年8月9日	Shanghai-Jiashan, China

発表者名	発表標 題	
山崎洋一	Photoactive Yellow Proteinにおける発色団の機能変調	
学会等名	発表年月日	発表場 所
第16回日本光生物学協会年会	2010年8月11日	大阪市

発表者名	発表標 題	
Mikio Kataoka	The mechanism of induced folding of Staphylococcal nuclease: Folding before binding or binding before folding?	
学会等名	発表年月日	発表場 所
第48回日本生物物理学会年会 (招待講演)	2010年9月21日	仙台市

発表者名	発表標題		
Tomomi Masui	Effects of trehalose on the structures and dynamics of lipid membrane		
学会等名	発表年月日	発表場所	
第48回日本生物物理学会年会	2010年9月21日	仙台市	

発表者名	発表標題		
Shun Hirota	Cytochrome c polymerization by successive domain swapping at the C-terminal helix		
学会等名	発表年月日	発表場所	
第48回日本生物物理学会年会	2010年9月22日	仙台市	

発表者名	発表標題		
Daizo Hamada	A case of EspB from enterohaemorrhagic Escherichia coli		
学会等名	発表年月日	発表場所	
第48回日本生物物理学会年会	2010年9月22日	仙台市	

発表者名	発表標題		
Yoko Ogawa	Property of a structural element of SNase-like domain in human p100		
学会等名	発表年月日	発表場所	
第48回日本生物物理学会年会	2010年9月22日	仙台市	

発表者名	発表標題		
Hiroki Sawada	The investigation of the relationship between non-local interaction and the effect of single alanine insertion in staphylococcal nuclease		
学会等名	発表年月日	発表場所	
第48回日本生物物理学会年会	2010年9月22日	仙台市	

発表者名	発表標題		
Junko Miura	Solution structure of the light sensor histidine kinase of Ppr comprised of the PYP and Bph domains		
学会等名	発表年月日	発表場所	
第48回日本生物物理学会年会	2010年9月21日	仙台市	

発表者名	発表標題		
Maiko Naruse	Solution structural analysis of Drosophila GGA		
学会等名	発表年月日	発表場所	
第48回日本生物物理学会年会	2010年9月21日	仙台市	

発表者名	発表標題		
Miki Hayashi	Analysis of solution state of the interaction protein of Rc-PYP		
学会等名	発表年月日	発表場所	
第48回日本生物物理学会年会	2010年9月21日	仙台市	

発表者名	発表標題		
Yusuke Kishi	FRET analysis of structural changes in Staphylococcal nuclease		
学会等名	発表年月日	発表場所	
第48回日本生物物理学会年会	2010年9月22日	仙台市	

発表者名	発表標題	
Changjun Ahn	The role of each residue in the flexible Ω loop of Staphylococcal nuclease on the catalytic activity	
学会等名	発表年月日	発表場所
第48回日本生物物理学会年会	2010年9月21日	仙台市

発表者名	発表標題	
Mariko Yamaguchi	Urea denaturation of staphylococcal nuclease monitored by tryptophan-cysteine distance	
学会等名	発表年月日	発表場所
第48回日本生物物理学会年会	2010年9月20日	仙台市

発表者名	発表標題	
Rumi Shiba	Classification of the functional element of dihydrofolate reductase (DHFR) by the systemic alanine insertion	
学会等名	発表年月日	発表場所
第48回日本生物物理学会年会	2010年9月21日	仙台市

発表者名	発表標題	
Hironari Kamikubo	Synthesis of an artificial enzyme by implanting the functional elements of SNase	
学会等名	発表年月日	発表場所
第48回日本生物物理学会年会	2010年9月21日	仙台市

発表者名	発表標題	
Yoichi Yamazaki	Substitution effects of basic residues in the photoactive yellow protein of <i>Rhodobacter capsulatus</i>	
学会等名	発表年月日	発表場所
第48回日本生物物理学会年会	2010年9月20日	仙台市

発表者名	発表標題	
片岡幹雄	蛋白質機能の発現に構造は必須か？	
学会等名	発表年月日	発表場所
日本物理学会2010年秋季大会	2010年9月23日	大阪市

発表者名	発表標題	
中川洋	中性子非弾性散乱と分子動力学によるタンパク質の揺らぎと水和水ダイナミクスの研究	
学会等名	発表年月日	発表場所
日本物理学会 2010年秋季大会	2010年9月24日	大阪市

発表者名	発表標題	
Hironari Kamikubo	Fluctuation controls enzymatic activity of Staphylococcal nuclease	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 4th International Symposium "Molecular Science of Fluctuations toward Biological Functions"	2010年12月1日	大津市

発表者名	発表標題	
Hiroki Sawada	The investigation of the relationship between non-local interaction and the effect of single alanine insertion in staphylococcal nuclease	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 4th International Symposium "Molecular Science of Fluctuations toward Biological Functions"	2010年11月30日	大津市

発表者名	発表標題	
Rumi Shiba	Classification of the functional element of dihydrofolate reductase by the systematic alanine insertion	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 4th International Symposium "Molecular Science of Fluctuations toward Biological Functions"	2010年12月1日	大津市

発表者名	発表標題	
Yusuke Kishi	FRET analysis of structural changes in staphylococcal nuclease	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 4th International Symposium "Molecular Science of Fluctuations toward Biological Functions"	2010年12月1日	大津市

発表者名	発表標題	
Mariko Yamaguchi	Measurements of loop formation in the denatured state of staphylococcal nuclease	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 4th International Symposium "Molecular Science of Fluctuations toward Biological Functions"	2010年11月30日	大津市

発表者名	発表標題	
Zhonghua Wang	Cytochrome c polymerization by successive domain swapping at the C-terminal helix	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 4th International Symposium "Molecular Science of Fluctuations toward Biological Functions"	2010年12月1日	大津市

発表者名	発表標題	
Mikio Kataoka	Low barrier hydrogen bond in photoactive yellow protein and its role in photoreaction	
学会等名	発表年月日	発表場所
International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (PACIFICHEM 2010) (招待講演)	2010年12月19日	Honolulu, U. S. A.

発表者名	発表標題	
Mikio Kataoka	High resolution neutron crystal structure of photoactive yellow protein: Discovery of low barrier hydrogen bond	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 7th Asian Biophysics Association (ABA) Symposium (招待講演)	2011年2月2日	New Delhi, India

発表者名	発表標題	
Mikio Kataoka	High resolution neutron crystallography of photoactive yellow protein - Discovery of low barrier hydrogen bond	
学会等名	発表年月日	発表場所
第3回韓日生体分子科学セミナー (招待講演)	2011年2月27日	Cheju-do, Korea

〔図 書〕 計 (4) 件

著 者 名	出 版 社				
Mikio Kataoka	Pan Stanford Publishing				
書 名				発 行 年	総ページ数
Water, The Forgotten Biological Molecule				2 0 1 1	49-62

著 者 名	出 版 社				
片岡幹雄	オーム社				
書 名				発 行 年	総ページ数
揺らぎと生体機能 (MedicalBio 10月別冊)				2 0 1 1	27-31

著 者 名	出 版 社				
片岡幹雄	化学同人				
書 名				発 行 年	総ページ数
光ナノ科学への招待				2 0 1 1	36-45

著 者 名	出 版 社				
Mikio Kataoka	John Wiley				
書 名				発 行 年	総ページ数
Neutrons in Soft Matter				2 0 1 1	517-538

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

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

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

13. 備考

※ 研究者又は所属研究機関が作成した研究内容又は研究成果に関するwebページがある場合は、URLを記載すること。

--