

様式 C - 7 - 1

平成24年度科学研究費助成事業（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 基盤研究(B) 4. 補助事業期間 平成21年度～平成24年度
5. 課題番号

2	1	3	5	0	0	9	5
---	---	---	---	---	---	---	---
6. 研究課題 光応答性タンパク質およびペプチドの創製と構造機能制御

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
9 0 2 8 3 4 5 7	ヒロタ シュン 廣田 俊	物質創成科学研究科	教授

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
3 0 4 5 2 5 3 5	ナガオ サトシ 長尾 聡	物質創成科学研究科	助教

9. 研究実績の概要

タンパク質、ペプチドなどの生体分子の立体構造を高い空間分解能と時間分解能で制御できれば、様々な利用法があり、特に、生体内計測分析や医療への利用が期待できる。平成24年度は、[NiFe]ヒドロゲナーゼのNi-Fe活性部位における水素活性化触媒反応機構の解明のため、本酵素の不活性酸化型の一つであるNi-A型の光反応性をフーリエ変換赤外分光法（FT-IR）と電子常磁性共鳴法（EPR）を用いて調べた。Ni-A型にレーザー光（457.9 - 514.5nm）を室温で照射するとFT-IRスペクトルが変化し、光反応性があることが判明した。光照射を停止するとFT-IRスペクトルの変化は観測されなくなったが、再度、光照射を開始すると同様のスペクトル変化が観測され、光反応は可逆的であることが判明した。Ni-A型のESRスペクトルも可視光照射により変化し、光照射を停止するとスペクトル変化は観測されなくなった。光照射によって生じた反応生成種のCO伸縮振動（ $\nu(\text{CO})$ ）は1971 cm^{-1} 、CN伸縮振動（ $\nu(\text{CN}^-)$ ）は2086と2098 cm^{-1} に観測された。ESRスペクトルのg値は2.29, 2.24, 2.02と求まり、光照射により新たな種が生成したと考えられ、Ni-AL型と名付けた。Ni-AL型のg値はNi-A型のg値（2.30, 2.23, 2.01）に非常に近いことから、Ni原子の電子状態はNi-A型と類似していると推測された。一方、Ni-AL型の $\nu(\text{CN}^-)$ 振動数はNi-A型の2084と2094 cm^{-1} からあまり変化しなかったが、 $\nu(\text{CO})$ 振動数はNi-A型の1956 cm^{-1} から15 cm^{-1} 高波数シフトしたことより、Ni-AL型はNi-A型に比べてFe原子に対してCOの反対側に位置する2原子分子配位子からFe原子への電子供与が弱くなったことが示唆された。

10. キーワード

- | | | | |
|-----------------|---------------|----------|----------|
| (1) 光応答性 | (2) タンパク質 | (3) ペプチド | (4) 金属錯体 |
| (5) タンパク質構造機能相関 | (6) タンパク質機能制御 | (7) | (8) |

11. 現在までの達成度

(区分)

(理由)

24年度が最終年度であるため、記入しない。

12. 今後の研究の推進方策

(今後の推進方策)

24年度が最終年度であるため、記入しない。

13. 研究発表(平成24年度の研究成果)

〔雑誌論文〕計(1)件 うち査読付論文 計(1)件

著者名		論文標題【掲載確定】			
H. Osuka, Y. Shomura, H. Komori, N. Shibata, S. Nagao, Y. Higuchi, S. Hirota		Photosensitivity of the Ni-A State of [NiFe] Hydrogenase from <i>Desulfovibrio vulgaris</i> Miyazaki F with Visible Light			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
Biochemical and Biophysical Research Communications	有	430	2013	284-288	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
10.1016/j.bbrc.2012.10.136					

〔学会発表〕計(3)件 うち招待講演 計(0)件

発表者名		発表標題【発表確定】	
長尾聡、富岡勇也、諸井麻希、廣田俊		ドメインスワッピングを利用したヘムタンパク質の多量体形成	
学会等名	発表年月日	発表場所	
第6回バイオ関連化学シンポジウム	2012年09月08日	北海道大学	

発表者名		発表標題【発表確定】	
高橋勇雄、小玉大典、廣田俊、長谷川美貴		金表面上のアゾベンゼン配位子からのCuの解離過程の考察	
学会等名	発表年月日	発表場所	
第62回錯体化学討論会	2012年09月21日	富山大学	

発表者名		発表標題【発表確定】	
長尾聡、富岡勇也、諸井麻希、廣田俊		ドメインスワッピングを利用した亜鉛置換シクロムcの多量体形成	
学会等名	発表年月日	発表場所	
日本化学会第93春季年会	2013年03月23日	立命館大学	

(図書) 計(0)件

著者名	出版社			
書名			発行年	総ページ数

14. 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
				出願年月日	

15. 備考

--