

様 式 C - 7 - 1

平成 2 5 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. 研究期間 平成 2 3 年度 ~ 平成 2 5 年度
5. 課題番号

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 2 | 3 | 3 | 7 | 0 | 0 | 7 | 4 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
6. 研究課題名 蛋白質の構造機能要素の抽出と応用の為の基盤整備

7. 研究代表者

| 研究者番号 | 研究代表者名 | 所属部局名 | 職名 |
|-----------------|---------------------|-----------|-----|
| 2 0 3 1 1 1 2 8 | カミクボ ヒロナリ 上久保 裕生 | 物質創成科学研究科 | 准教授 |

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 1 5 0 2 5 4 | カタオカ ミキオ 片岡 幹雄 | 物質創成科学研究科 | 教授 |
| 4 0 3 3 2 7 7 0 | ヤマザキ ヨウイチ 山崎 洋一 | 物質創成科学研究科 | 助教 |
| | | | |
| | | | |
| | | | |

9. 研究実績の概要

申請者は、蛋白質一般に、アミノ酸配列の分断によって、構造・機能に著しい影響が生じる領域が存在することを示してきた。本申請研究では、これらの領域が、構造や機能の基本要素（エレメント）になっているとの仮説を実証するために、類似構造を有する「異種」蛋白質間でのエレメントの位置保存性を確認し、さらに、蛋白質間でのエレメントの交換可能性について検証することを目的として研究を行ってきた。

本目的のため、すでにエレメントの同定に成功していた黄色ブドウ球菌由来の核酸分解酵素（Staphylococcal nuclease, SNase）に加え、機能が異なるものの構造類似性を示すヒト由来転写調節因子p100のC末端ドメイン（TSN）に対してアラニン挿入変異解析を行った。その結果、立体構造上SNaseとほぼ同一の位置に、TSNの構造エレメントが存在していることが明らかとなった。この事実は、構造類似性を示す蛋白質間での構造エレメントの位置保存性を示唆するものである。機能エレメントを用いた機能移植の可能性を検討するため、SNaseの機能エレメントをTSNに移植した人工蛋白質を作製し機能評価を行った。その結果、作製した人工蛋白質は部分的に変性した構造を示したものの、SNaseが示す核酸分解活性を獲得していることが明らかとなった。以上の結果より、蛋白質間で機能エレメントを交換することによって、機能そのものを移植することが可能であることを示すことができた。本研究によって、アラニン挿入変異解析によって同定されるエレメントが、蛋白質の構造や機能を規定する要素であることを示唆すると同時に、蛋白質工学的手法への応用可能性を示すことができた。

10. キーワード

(1) 蛋白質工学

(2) 分子設計

(3) フォールディング

(4) 酵素

(5)

(6)

(7)

(8)

11. 現在までの達成度

(区分)

(理由)

25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)

25年度が最終年度であるため、記入しない。

13.研究発表(平成25年度の研究成果)

(雑誌論文) 計(6)件 うち査読付論文 計(6)件

| 著者名 | | 論文標題 | | | |
|---------------------------------|-------|---|---------|---------|--|
| Yukiumi Kita | | Theoretical analysis of the geometrical isotope effect on the hydrogen bonds in photoactive yellow protein with multi-component density functional theory | | | |
| 雑誌名 | 査読の有無 | 巻 | 発行年 | 最初と最後の頁 | |
| Chem. Phys. | 有 | 419 | 2 0 1 3 | 50-53 | |
| 掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) | | | | | |
| 10.1016/j.chemphys.2012.11.022. | | | | | |

| 著者名 | | 論文標題 | | | |
|---------------------------------|-------|--|---------|---------|--|
| Jun-ichi Uewaki | | Preferential domain orientation of HMGB2 determined by weak intramolecular interactions mediated by the interdomain linker | | | |
| 雑誌名 | 査読の有無 | 巻 | 発行年 | 最初と最後の頁 | |
| Chem. Phys. | 有 | 419 | 2 0 1 3 | 212-223 | |
| 掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) | | | | | |
| 10.1016/j.chemphys.2013.02.004. | | | | | |

| 著者名 | | 論文標題 | | | |
|-------------------------|-------|--|---------|-----------|--|
| Junpei Yuasa | | Fingerprint signatures of lanthanide circularly polarized luminescence from proteins covalently labeled by a β -diketonate europium(III) chelate | | | |
| 雑誌名 | 査読の有無 | 巻 | 発行年 | 最初と最後の頁 | |
| Chem. Commun. | 有 | 49 | 2 0 1 3 | 4604-4606 | |
| 掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) | | | | | |
| 10.1039/c3cc40331a. | | | | | |

| 著者名 | 論文標題 | | | |
|-------------------------|--|-----|---------------|-----------|
| Naokazu Inoue | Molecular dissection of IZUMO1, a sperm protein essential for sperm-egg fusion | | | |
| 雑誌名 | 査読の有無 | 巻 | 発行年 | 最初と最後の頁 |
| Development | 有 | 140 | 2 0 1 3 | 3221-3229 |
| 掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) | | | | |
| 10.1242/dev.094854.2013 | | | | |

| 著者名 | 論文標題 | | | |
|-------------------------------|---|---|---------------|---------|
| Mitsuhide Hamaguchi | Structural Basis of α -Catenin Recognition by EspB from Enterohaemorrhagic E. coli Based on Hybrid Strategy Using Low-Resolution Structural and Protein Dissection | | | |
| 雑誌名 | 査読の有無 | 巻 | 発行年 | 最初と最後の頁 |
| PLoS One | 有 | 8 | 2 0 1 3 | e71618 |
| 掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) | | | | |
| 10.1371/journal.pone.0071618. | | | | |

| 著者名 | 論文標題 | | | |
|----------------------------|--|-----|---------------|---------|
| Dian Novitasari | Excited-State Proton Transfer in Fluorescent Photoactive Yellow Protein Containing 7-Hydroxycoumarin | | | |
| 雑誌名 | 査読の有無 | 巻 | 発行年 | 最初と最後の頁 |
| Advanced Materials Reserch | 有 | 896 | 2 0 1 3 | 85-88 |
| 掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) | | | | |
| 10.4028 | | | | |

(学会発表) 計(38)件 うち招待講演 計(6)件

| 発表者名 | | 発表標題 | |
|---|--|--------------------------------|-----------------|
| 上久保裕生 | | 弱い相互作用で関連づけられたタンパク質分子集団の構造学的解析 | |
| 学会等名 | | 発表年月日 | 発表場所 |
| 国際高等研究所研究プロジェクト「分子基盤に基づく生体機能への揺らぎとダイナミックネットワークの解明」2013年度第1回研究会プログラム | | 2013年04月21日 | 国際高等研究所、京都府木津川市 |

| 発表者名 | | 発表標題 | |
|----------------------|--|---|-----------------|
| 上久保裕生 | | Photoactive Yellow Protein中の低障壁水素結合と近傍アルギニンの解離性 | |
| 学会等名 | | 発表年月日 | 発表場所 |
| 第13回日本蛋白質科学会年会(招待講演) | | 2013年06月12日～2013年06月14日 | とりぎん文化会館、鳥取県鳥取市 |

| 発表者名 | | 発表標題 | |
|----------------|--|----------------------------------|-----------------|
| 芝るみ | | 黄色ブドウ球菌由来核酸分解酵素におけるループの揺らぎと機能の関係 | |
| 学会等名 | | 発表年月日 | 発表場所 |
| 第13回日本蛋白質科学会年会 | | 2013年06月12日～2013年06月14日 | とりぎん文化会館、鳥取県鳥取市 |

| 発表者名 | | 発表標題 | |
|--------------------|--|------------------------|------------------------------|
| 上久保裕生 | | 光センサー蛋白質の局所状態変化と全体構造変化 | |
| 学会等名 | | 発表年月日 | 発表場所 |
| 第3回CIMoSセミナー(招待講演) | | 2013年06月28日 | 分子科学研究所協奏分子システム研究センター、愛知県岡崎市 |

| 発表者名 | | 発表標題 | |
|---|--|---------------------|-----------------|
| 上久保裕生 | | 光センサー蛋白質からみた階層間の連続性 | |
| 学会等名 | | 発表年月日 | 発表場所 |
| 国際高等研究所研究プロジェクト「分子基盤に基づく生体機能への揺らぎとダイナミックネットワークの解明」2013年度第2回研究会プログラム | | 2013年08月08日 | 国際高等研究所、京都府木津川市 |

| 発表者名 | | 発表標題 | |
|--|--|------------------------|--------------------------------|
| 上久保裕生 | | 折り畳み機構を踏まえた蛋白質分子設計方の開発 | |
| 学会等名 | | 発表年月日 | 発表場所 |
| NAIST未来開発コロキウム - 明日をつくる分子・人材ネットワーク(招待講演) | | 2013年08月09日 | 奈良先端科学技術大学院大学 物質創成科学研究科、奈良県生駒市 |

| 発表者名 | | 発表標題 | |
|--|--|---------------------------|-----------------|
| 上久保裕生 | | X線溶液散乱法を用いたタンパク質構造の解析 | |
| 学会等名 | | 発表年月日 | 発表場所 |
| 分子・物質合成プラットフォーム技術研修会 - 先端施設の利用機会と高度な技術支援の提供 - (招待講演) | | 2013年08月22日 ~ 2013年08月23日 | ホテル京阪 京都、京都府京都市 |

| 発表者名 | | 発表標題 | |
|--|--|--|---|
| Dian Novitasari | | Excited-state proton transfer in fluorescent Photoactive Yellow Protein containing 7-hydroxycoumarin | |
| 学会等名 | | 発表年月日 | 発表場所 |
| International Conference on Advanced Materials Science and Technology 2013 | | 2013年09月17日 ~ 2013年09月18日 | University Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|------------------|--|----------------------|
| 松本昇紘 | トリプトファン三重項寿命を用いたStaphylococcal nucleaseの主鎖の運動性評価 | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 日本物理学会 2013年秋季大会 | 2013年09月25日～2013年09月28日 | 徳島大学、常三島キャンパス、徳島県徳島市 |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|---|-----------------|----------------------|
| 上久保裕生 | 機能を生み出す単位生体分子集団 | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 生命システムにおける動的秩序形成と高次機能発現 第1回公開シンポジウム(招待講演) | 2013年10月02日 | 岡崎コンファレンスセンター、愛知県岡崎市 |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|----------------|---|-----------------|
| Mikio Kataoka | Time-resolved Laue crystallography of photoactive yellow protein with 150psec time resolution | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 第51回日本生物物理学会年会 | 2013年10月28日～2013年10月30日 | 国立京都国際会館、京都府京都市 |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|-----------------|---|-----------------|
| Megha Deshpande | Domain-Swapped Oligomerization and Molten Globule State of Cytochrome c | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 第51回日本生物物理学会年会 | 2013年10月28日～2013年10月30日 | 国立京都国際会館、京都府京都市 |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|-----------------|---|-----------------|
| Yoichi Yamazaki | Analysis of interaction sites on the Photoactive Yellow Protein of Rhodobacter capsulatus | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 第51回日本生物物理学会年会 | 2013年10月28日 ~ 2013年10月30日 | 国立京都国際会館、京都府京都市 |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|----------------|--|-----------------|
| Rumi Shiba | The role of the flexible loop in Staphylococcal nuclease on its catalytic activity | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 第51回日本生物物理学会年会 | 2013年10月28日 ~ 2013年10月30日 | 国立京都国際会館、京都府京都市 |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|-----------------|---|-----------------|
| Dian Novitasari | Exited State Proton Transfer of Fluorescent Photoactive Yellow Protein Reconstituted with Hydroxycoumarin | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 第51回日本生物物理学会年会 | 2013年10月28日 ~ 2013年10月30日 | 国立京都国際会館、京都府京都市 |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|----------------|--|-----------------|
| Kento Yonezawa | Protonation State of Arginine 52 in Photoactive Yellow Protein | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 第51回日本生物物理学会年会 | 2013年10月28日 ~ 2013年10月30日 | 国立京都国際会館、京都府京都市 |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|----------------|--|-----------------|
| Keito Yoshida | X-ray Solution Scattering Studies of PYP-Phytochrome Related Protein | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 第51回日本生物物理学会年会 | 2013年10月28日～2013年10月30日 | 国立京都国際会館、京都府京都市 |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|----------------|---|-----------------|
| Emi Ohta | Analysis of unfolded structure of Staphylococcal nuclease mutants by using FRET | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 第51回日本生物物理学会年会 | 2013年10月28日～2013年10月30日 | 国立京都国際会館、京都府京都市 |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|--------------------|---|-----------------|
| Takahiro Matsumoto | Main-chain dynamics of staphylococcal nuclease in microsecond timescale | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 第51回日本生物物理学会年会 | 2013年10月28日～2013年10月30日 | 国立京都国際会館、京都府京都市 |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|--------------------|---|-----------------|
| Toshiyuki Minemura | Local flexibility of denatured structure and its relationship to non-local interaction in staphylococcal nuclease | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 第51回日本生物物理学会年会 | 2013年10月28日～2013年10月30日 | 国立京都国際会館、京都府京都市 |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|-----------------|--|-----------------|
| Toshio Morimoto | Extraction of Function Elements from Green Fluorescent Protein | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 第51回日本生物物理学会年会 | 2013年10月29日 | 国立京都国際会館、京都府京都市 |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|----------------|--|-----------------|
| Mai Arakawa | Roles of functional elements transplanted into the artificial enzyme | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 第51回日本生物物理学会年会 | 2013年10月28日～2013年10月30日 | 国立京都国際会館、京都府京都市 |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|-------------------|--|-----------------|
| Hiroshi Matsumoto | X-ray crystal structure analysis of the Photoactive Yellow Protein of Rhodobacter capsulatus | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 第51回日本生物物理学会年会 | 2013年10月28日～2013年10月30日 | 国立京都国際会館、京都府京都市 |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|--------------------|--|-----------------|
| Yoshiaki Matsumoto | Analysis of equilibrium of intermediate states of PYP by use of chimera proteins | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 第51回日本生物物理学会年会 | 2013年10月28日～2013年10月30日 | 国立京都国際会館、京都府京都市 |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|----------------|---|-----------------|
| Masayoshi Noji | Protonation state of R52 at the PYPM intermediate state | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 第51回日本生物物理学会年会 | 2013年10月28日～2013年10月30日 | 国立京都国際会館、京都府京都市 |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|---|--|----------------------|
| Hironari Kamikubo | Functional modification of a protein by using element implantation | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| Sixth Korea-Japan Seminars on Biomolecular Sciences; Experiments and Simulations (招待講演) | 2013年11月25日～2013年11月27日 | 岡崎コンファレンスセンター、愛知県岡崎市 |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|--|--|-------------------|
| Hironari Kamikubo | Exploring regulatory association and dissociation processes of biological molecules constituting a functional module | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| The 2nd International Symposium on Dynamical Ordering of Biomolecular Systems for Creation of Integrated Functions | 2014年01月11日～2014年01月12日 | キャンパスプラザ京都、京都府京都市 |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|--|--|-------------------|
| Yoichi Yamazaki | Interaction sites analysis for the photoactive yellow protein of Rhodospirillum rubrum | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| The 2nd International Symposium on Dynamical Ordering of Biomolecular Systems for Creation of Integrated Functions | 2014年01月11日～2014年01月12日 | キャンパスプラザ京都、京都府京都市 |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|--|--|-------------------|
| Mariko Yamaguchi | Local disordered structure of staphylococcal nuclease studied by tryptophan triplet state lifetime measurement | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| The 2nd International Symposium on Dynamical Ordering of Biomolecular Systems for Creation of Integrated Functions | 2014年01月11日～2014年01月12日 | キャンパスプラザ京都、京都府京都市 |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|--|---|-------------------|
| Takahiro Matsumoto | Loop dynamics of staphylococcal nuclease in microsecond timescale | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| The 2nd International Symposium on Dynamical Ordering of Biomolecular Systems for Creation of Integrated Functions | 2014年01月11日～2014年01月12日 | キャンパスプラザ京都、京都府京都市 |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|--|--|-------------------|
| Toshiyuki Minemura | Local flexibility around tryptophan140 and its relationship to non-local interaction in disordered staphylococcal nuclease | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| The 2nd International Symposium on Dynamical Ordering of Biomolecular Systems for Creation of Integrated Functions | 2014年01月11日～2014年01月12日 | キャンパスプラザ京都、京都府京都市 |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|--|--|-------------------|
| Toshio Morimoto | Extraction of function elements from green fluorescent protein | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| The 2nd International Symposium on Dynamical Ordering of Biomolecular Systems for Creation of Integrated Functions | 2014年01月11日～2014年01月12日 | キャンパスプラザ京都、京都府京都市 |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|--|---|-------------------|
| Masayoshi Noji | Protonation state of R52 at the pymp intermediate state | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| The 2nd International Symposium on Dynamical Ordering of Biomolecular Systems for Creation of Integrated Functions | 2014年01月11日～2014年01月12日 | キャンパスプラザ京都、京都府京都市 |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|--|---|-------------------|
| Hiroshi Matsumoto | X-ray crystal structure analysis of the Photoactive Yellow Protein of | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| The 2nd International Symposium on Dynamical Ordering of Biomolecular Systems for Creation of Integrated Functions | 2014年01月11日～2014年01月12日 | キャンパスプラザ京都、京都府京都市 |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|--|--|-------------------|
| Yoshiaki Matsumoto | Analysis of Equilibrium of intermediate states of PYP by use of chimera proteins | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| The 2nd International Symposium on Dynamical Ordering of Biomolecular Systems for Creation of Integrated Functions | 2014年01月11日～2014年01月12日 | キャンパスプラザ京都、京都府京都市 |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|--|--|-------------------|
| Emi Ohta | Statistical characteristics of unfolded staphylococcal nuclease studied by FRET analysis | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| The 2nd International Symposium on Dynamical Ordering of Biomolecular Systems for Creation of Integrated Functions | 2014年01月11日～2014年01月12日 | キャンパスプラザ京都、京都府京都市 |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|--|--|-------------------|
| Mai Arakawa | Roles of functional elements transplanted into the artificial enzyme | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| The 2nd International Symposium on Dynamical Ordering of Biomolecular Systems for Creation of Integrated Functions | 2014年01月11日～2014年01月12日 | キャンパスプラザ京都、京都府京都市 |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|--|-------------------------|--------------------|
| 上久保裕生 | 溶液散乱を用いた多成分平衡系における構造解析 | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| Spring-8ワークショップ「Spring-8とユーザーのさらなる連携をめざして」 | 2014年02月01日～2014年02月02日 | 理化学研究所播磨事業所、兵庫県佐用町 |

(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

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