

様式 Z - 7

平成26年度科学研究費助成事業 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26年度～平成28年度
5. 課題番号

2	6	2	8	8	0	8	0
---	---	---	---	---	---	---	---
6. 研究課題名 ドメインスワッピングを利用したタンパク質の超分子化技術の開発と機能化

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 シユン	物質創成科学研究科	教授
	廣田 俊		

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

9. 研究実績の概要

ウマシトクロムc (cyt c) はエタノールで処理すると、C末端領域のヘリックスを分子間で交換してドメインスワッピングする。本研究では、高イオン濃度下、ウマcyt cを高タンパク質濃度で酸性モルテングロビュール状態から中性状態へフォールディングさせると、多量体が形成することを見出した。得られた2量体は、C末端ヘリックスをプロトマー間で交換し、これまでに報告した2量体と同じドメインスワップ構造を有していた。125 mM ClO₄⁻を含む酸性溶液中のcyt cモルテングロビュール状態では、cyt c分子の約25%がお互いに相互作用し、凝集していることがX線小角散乱測定により示唆された。一方、cyt cを125 mM ClO₄⁻を含む酸性モルテングロビュール状態から中性状態へフォールディングさせると、cyt c分子の約11%がドメインスワップ2量体として得られた。これらの結果は、cyt cのモルテングロビュール状態での凝集体が一定の割合でドメインスワップ多量体に折れ畳まることを示しており、ドメインスワップした多量体を形成するための相互作用はモルテングロビュール状態で既に存在することが示唆された。

ミオグロビン (Mb) がアルコール添加により分子間で同じ構造領域をドメインスワッピングして二量体を形成することを利用し、Mbの分子表面を精密設計することにより、異なる2つのヘム活性部位を有する人工Mb二量体を作製することに初めて成功した。さらに、Mb 2量体の一酸化炭素結合挙動を明らかにした。Mbの単量体と2量体で、活性部位構造が類似していても、タンパク質構造の変化により一酸化炭素の結合特性が異なることが判明した。

10. キーワード

- (1) 蛋白質 (2) 超分子化学 (3) 生体分子 (4) ナノバイオ
- (5) 多量体 (6) 立体構造 (7) (8)

(注) ・印刷に当たっては、A4判(縦長)・両面印刷すること。

(1/9)

11. 現在までの達成度

(区分)(2) おおむね順調に進展している。

(理由)

ウマシトクロムc、緑膿菌由来シトクロムc551、超好熱菌由来シトクロムc555、ミオグロビンなどのドメインスワッピングに関連する論文が国際学術雑誌に8報掲載された。ミオグロビンのヘテロダイマー作製に関する研究成果は、ドイツの総合化学誌に掲載された。

12. 今後の研究の推進方策 等

(今後の推進方策)

引き続き、他のタンパク質の多量体形成や細胞内でのドメインスワッピング、シトクロムcとリポソームの相互作用について調べる。

(次年度使用額が生じた理由と使用計画)

(理由)

オープンアクセス誌のPLoS ONEへの掲載決定が2015年2月25日にあり、その掲載料が4月以降になった。また、2015年3月26日に届いたProtein Science誌への掲載料のinvoiceの金額が間違っており、正しい金額でのinvoiceの再発行を出版者に要求したため、Protein Science誌への掲載料の支払いも翌年度になってしまった。

(使用計画)

PLoS ONE誌及びProtein Science誌への掲載料に用いる。

13.研究発表(平成26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			
M. S. Deshpande, P. P. Parui, H. Kamikubo, M. Yamanaka, S. Nagao, H. Komori, M. Kataoka, Y. Higuchi, S. Hirota		Formation of Domain-Swapped Oligomer of Cytochrome c from Its Molten Globule State Oligomer			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
Biochemistry	有	53	2 0 1 4	4696-4703	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
10.1021/bi500497s					

著者名		論文標題			
Z. Wang, Y. Ando, A. D. Nugraheni, C. Ren, S. Nagao, S. Hirota		Self-Oxidation of Cytochrome c at Methionine80 with Molecular Oxygen Induced by Cleavage of the Met - Heme Iron Bond			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
Molecular BioSystems	有	10	2 0 1 4	3130-3137	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
10.1039/C4MB00285G					

著者名		論文標題			
M. S. Deshpande, S. Junedi, H. Prakash, S. Nagao, M. Yamanaka, S. Hirota		DNA Cleavage by Oxymyoglobin and Cysteine-Introduced Metmyoglobin			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
Chemical Communications	有	50	2 0 1 4	15034-15036	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
10.1039/C4CC06617K					

著者名	論文標題			
H. Tai, K. Nishikawa, M. Suzuki, Y. Higuchi, S. Hirota	Control of the Transition between Ni-C and Ni-S1a States by the Redox State of the Proximal Fe-S Cluster in the Catalytic Cycle of [NiFe] Hydrogenase			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Angewandte Chemie International Edition	有	53	2 0 1 4	13817-13820
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)				
10.1002/anie.201408552				

著者名	論文標題			
Y.-W. Lin, S. Nagao, M. Zhang, Y. Shomura, Y. Higuchi, S. Hirota,	Rational Design of Heterodimeric Protein Using Domain Swapping for Myoglobin			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Angewandte Chemie International Edition	有	54	2 0 1 5	511-515
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)				
10.1002/anie.201409267				

著者名	論文標題			
M. Yamanaka, S. Nagao, H. Komori, Y. Higuchi, S. Hirota	Change in Structure and Ligand Binding Properties of Hyperstable Cytochrome c555 from Aquifex aeolicus by Domain Swapping			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Protein Science	有	24	2 0 1 5	366-375
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)				
10.1002/pro.2627				

著者名		論文標題			
S. Nagao, H. Ishikawa, T. Yamada, Y. Mizutani, S. Hirota		Carbon Monoxide Binding Properties of Domain-Swapped Dimeric Myoglobin			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
Journal of Biological Inorganic Chemistry	有	20	2 0 1 5	523-530	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
10.1007/s00775-014-1236-0					

著者名		論文標題			
S. Nagao, M. Ueda, H. Osuka, H. Komori, H. Kamikubo, M. Kataoka, Y. Higuchi, S. Hirota		Domain-Swapped Dimer of Pseudomonas aeruginosa Cytochrome c551: Structural Insights into Domain Swapping of Cytochrome c Family Proteins			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
PLoS ONE	有	10	2 0 1 5	e0123653	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
10.1371/journal.pone.0123653					

(学会発表) 計(11)件 うち招待講演 計(4)件

発表者名		発表標題	
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超分子化	
学会等名	発表年月日	発表場所	
第41回生体分子科学討論会(招待講演)	2014年06月07日	九州大学(福岡市)	

発表者名		発表標題	
廣田俊		ドメインスワッピングによるヘムタンパク質の会合	
学会等名	発表年月日	発表場所	
第24回金属の関与する生体関連反応シンポジウム(招待講演)	2014年06月14日	京都薬科大学(京都市)	

発表者名	発表標題	
宮本昂明、栗林麻衣、長尾聡、庄村康人、樋口芳樹、廣田俊	シトクロム cb562の多量化と二量体構造	
学会等名	発表年月日	発表場所
第8回バイオ関連化学シンポジウム	2014年09月12日	岡山大学(岡山市)

発表者名	発表標題	
林有吾、中山璃子、長尾聡、山中優、小森博文、樋口芳樹、廣田俊	生理的条件下でのシトクロムc多量体形成	
学会等名	発表年月日	発表場所
第8回バイオ関連化学シンポジウム	2014年09月12日	岡山大学(岡山市)

発表者名	発表標題	
Shun Hirota	Design and construction of protein supramolecules for anticancer agent and DDS	
学会等名	発表年月日	発表場所
Medan International Conference on Advanced Pharmaceutical Sciences (MICAPS 2014)(招待講演)	2014年11月03日	Medan (Indonesia)

発表者名	発表標題	
廣田俊	ヘムタンパク質の多量化・タンパク質変性と機能化(2)	
学会等名	発表年月日	発表場所
分子研研究会「生物無機化学の最先端と今後の展望:金属と生体分子の相互作用機序解明とモデル化および応用への展開」(招待講演)	2015年01月06日	分子科学研究所(岡崎市)

発表者名	発表標題	
Yugo Hayashi, Satoshi Nagao, Masaru Yamanaka, Hirofumi Komori, Yoshiki Higuchi, Shun Hirota	Formation of domain-swapped oligomer of <i>Hydrogenobacter thermophilus</i> cytochrome c552 in an expression system	
学会等名	発表年月日	発表場所
95th Spring Conference of the Chemical Society of Japan	2015年03月26日	Nihon University (Funabashi)

発表者名	発表標題	
中西司、山中優、廣田俊	緑膿菌由来シトクロムc551と好熱性水素細菌由来シトクロムc552のキメラタンパク質を用いたヘテロダイマーの構築	
学会等名	発表年月日	発表場所
日本化学会第95春季年会	2015年03月26日	日本大学(船橋)

発表者名	発表標題	
Satoshi Nagao, Ying-Wu Lin, Haruto Ishikawa, Takuya Yamada, Mohan Zhang, Yasuhito Shomura, Yasuhisa Mizutani, Yoshiki Higuchi, Shun Hirota	Design and properties of domain-swapped dimeric myoglobin	
学会等名	発表年月日	発表場所
95th Spring Conference of the Chemical Society of Japan	2015年03月27日	Nihon University (Funabashi)

発表者名	発表標題	
Takaaki Miyamoto, Mai Kuribayashi, Satoshi Nagao, Yasuhito Shomura, Yoshiki Higuchi, Shun Hirota	Crystal structure and function of a domain-swapped cytochrome cb562 dimer	
学会等名	発表年月日	発表場所
95th Spring Conference of the Chemical Society of Japan	2015年03月29日	Nihon University (Funabashi)

発表者名	発表標題	
Chunguang Ren, Masaru Yamanaka, Satoshi Nagao, Shun Hirota	Construction of high-order domain-swapped oligomers of Hydrogenobacter thermophilus cytochrome c552 by hinge loop mutation	
学会等名	発表年月日	発表場所
95th Spring Conference of the Chemical Society of Japan	2015年03月29日	Nihon University (Funabashi)

〔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

--