

様 式 C - 7 - 1

平成 27 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 特別研究員奨励費 4. 研究期間 平成 26 年度～平成 27 年度
5. 課題番号

2	6	・	1	0	3	0	5
---	---	---	---	---	---	---	---
6. 研究課題名 高熱安定性シトクロム c を利用した生体内タンパク質高次構造体形成の機構解明と制御

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
	ハヤシ ユウゴ	物質創成科学研究科	特別研究員(PD)
	林 有吾		

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

昨年度実施した研究により、野生型好熱菌 cyt c552 は大腸菌内でドメインスワップ多量体を形成することが分かった。そこで本年度は、タンパク質の精製を簡便にしより詳しく多量体形成について調べるため、昨年度構築した C 末端に His-tag を付加した好熱菌 cyt c552 の発現系を用いた。

タンパク質発現量と多量体形成の関係について調べるため、His-tag を付加した好熱菌 cyt c552 の発現系を有する大腸菌を培養し、培養途中の培養液を一部取り出して発現量と多量体形成量を調べた。菌体 1 g 当たりの好熱菌 cyt c552 の発現量は培養 5 時間から 12 時間の間に増え、その後も緩やかに増加した。一方全タンパク質中に占める多量体の割合も培養 5 時間から 12 時間の間に増加した。この結果より細胞内のタンパク質濃度が上昇すると多量体の割合が増加することが分かった。

次に、タンパク質の安定性と多量体形成の関係を調べた。好熱菌 cyt c552 安定化に寄与しているアミノ酸を別のアミノ酸に置換した変異体 (I76V、A5F/M11V、Y32F/Y41E、A5F/M11V/Y32F/Y41E/I76V) は野生型より安定性が下がると報告されている。本研究では His-tag を付加した野生型および 4 つの変異体について、それぞれを大腸菌内に発現させ、抽出後 HisTrap カラムで分析し、多量体形成量を比較した。その結果、二量体より大きな高次多量体が占める割合はタンパク質の安定性が低くなるほど減少した。この結果よりタンパク質の安定性も細胞内でのタンパク質多量体形成に影響する因子の一つであることが示された。

10. キーワード

- | | | | |
|-----------|---------|------------|----------------|
| (1) タンパク質 | (2) 安定性 | (3) シトクロムc | (4) ドメインスワッピング |
| (5) | (6) | (7) | (8) |

11. 現在までの進捗状況

(区分)

(理由)

27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)

27年度が最終年度であるため、記入しない。

13. 研究発表(平成27年度の研究成果)

(雑誌論文) 計(1)件/うち査読付論文 計(1)件/うち国際共著論文 計(0)件/うちオープンアクセス 計(1)件

著者名		論文標題【掲載確定】				
Yugo Hayashi, Masaru Yamanaka, Satoshi Nagao, Hirofumi Komori, Yoshiki Higuchi, Shun Hirota		Domain swapping oligomerization of thermostable c-type cytochrome in E. coli cells				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著	
Scientific reports	有	6	2016	19334	-	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)						
10.1038/srep19334						
オープンアクセス						
オープンアクセスとしている(また、その予定である)						

(学会発表) 計(2)件/うち招待講演 計(0)件/うち国際学会 計(0)件

発表者名		発表標題	
林有吾、山中優、長尾聡、小森博文、樋口芳樹、廣田俊		好熱菌シトクロムc552のドメインスワップ多量体形成	
学会等名	発表年月日	発表場所	
日本生物高分子学会2015年度大会	2015年09月19日～ 2015年09月20日	香川大学、香川県高松市	

発表者名		発表標題	
林有吾、山中優、長尾聡、小森博文、樋口芳樹、廣田俊		発現系におけるc型シトクロムの多量体形成	
学会等名	発表年月日	発表場所	
日本化学会第96春季年会	2016年03月24日～ 2016年03月27日	同志社大学、京都府京田辺市	

(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. 科研費を使用して開催した国際研究集会

(国際研究集会) 計(0)件

国際研究集会名	開催年月日	開催場所

16. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

(1) 国際共同研究: -

17. 備考

