

様式 F - 7 - 1

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）実施状況報告書（研究実施状況報告書）（平成27年度）

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 挑戦的萌芽研究 4. 補助事業期間 平成27年度～平成28年度

5. 課題番号

1	5	K	1	3	7	4	4
---	---	---	---	---	---	---	---

6. 研究課題名 ドメインスワッピングを利用した新規タンパク質ケージの開発

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

9. 研究実績の概要

4ヘリックスバンドル構造を有するヘムタンパク質シトクロム（cyt）b562およびそのヘムをアミノ酸置換で導入した2個のシステインとのチオエーテル結合によりタンパク質部分に固定化させたc型cyt b562変異体（cyt cb562）を作製した。Cyt b562およびcyt cb562を酢酸添加、凍結乾燥、再溶解の操作によりそれぞれ多量化させることに成功し、作製したcyt cb562多量体がcyt b562多量体より安定であることが分かった。吸収およびCDスペクトルから、cyt cb562の2量体が単量体に類似した活性部位構造と2次構造を有することが示唆され、cyt cb562の2量体の酸化還元電位は単量体の電位とほぼ同じ198 mV（NHE基準）を示した。Cyt cb562の2量体の詳細な立体構造をX線結晶構造解析により決定した。Cyt cb562はドメインスワッピングにより2量体を形成し、一方のプロトマーに属するN末端側の2本のヘリックスがもう一方のプロトマーに属するC末端側の2本のヘリックスと相互作用していることが明らかとなった。Cyt cb562の2量化では、N末端から数えて2番目と3番目のヘリックスを結ぶループ上のLys51-Asp54がヒンジループとして働いており、2量体のヘム配位構造は単量体の配位構造と類似していることも明らかとなった。さらに、結晶中で3つのcyt cb562の2量体が特異なケージ構造を形成していた。ケージの内部空間には15個のZn²⁺と6個のS042-から成るZn-S04クラスターが存在し、クラスターに含まれない6個のZn²⁺もケージ内に観察された。ケージ構造はケージに内包されたZn²⁺とcyt cb562の2量体のアミノ酸側鎖との配位結合により安定化されていた。

10. キーワード

- | | | | |
|--------------|--------------|----------------|-----------|
| (1) 蛋白質 | (2) 超分子 | (3) 生体分子 | (4) ナノバイオ |
| (5) タンパク質構造体 | (6) タンパク質ケージ | (7) ドメインスワッピング | (8) |

11. 現在までの進捗状況

(区分)(2) おおむね順調に進展している。

(理由)

本研究では、cyt cb562の2量体がドメインスワッピングにより形成することをX線結晶構造解析により示し、結晶中で3つのcyt cb562の2量体が特異なケージ構造を形成し、その内部空間にZn-SO₄クラスターが存在することを明らかにした。これらの研究成果をChemical Science誌に発表した。

12. 今後の研究の推進方策 等

(今後の推進方策)

引き続き、新しい系でもドメインスワッピングを利用してタンパク質ケージの開発を行う。

(次年度使用額が生じた理由と使用計画)

(理由)

研究成果をまとめ、論文執筆を中心に行ったため。

(使用計画)

新しい系でタンパク質ケージの開発研究を行うため、タンパク質の作製や精製などの消耗品費として使用する。

(課題番号: 15K13744)

(注)・印刷に当たっては、A4判(縦長)・両面印刷すること。

(2 / 6)

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 計(0)件/うちオープンアクセス 計(1)件

著者名		論文標題				
Takaaki Miyamoto, Mai Kuribayashi, Satoshi Nagao, Yasuhito Shomura, Yoshiki Higuchi, Shun Hirota		Domain-swapped Cytochrome cb562 Dimer and Its Nanocage Encapsulating a Zn-SO ₄ Cluster in the Internal Cavity				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著	
Chemical Science	有	6	2015	7336-7342	-	
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)						
10.1039/C5SC02428E						
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(7)件/うち招待講演 計(4)件/うち国際学会 計(4)件

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		ドメインスワップしたシトクロムcb562の構造と性質	
学会等名	発表年月日	発表場所	
第25回金属の関与する生体関連反応シンポジウム	2015年05月30日 ~ 2015年05月31日	長崎大学(長崎県長崎市)	

発表者名		発表標題	
Shun Hirota		Cytochrome c and Myoglobin Oligomers Formed by Domain Swapping	
学会等名	発表年月日	発表場所	
International Symposium on Metal Complexes (ISMEC2015)(招待講演)(国際学会)	2015年06月24日 ~ 2015年06月27日	Hotel Plaza (Wroclaw, Poland)	

発表者名	発表標題	
Shun Hirota	Construction of Dimeric Heme Proteins by Domain Swapping	
学会等名	発表年月日	発表場所
17th International Conference on Biological Inorganic Chemistry (ICBIC17) (招待講演) (国際学会)	2015年07月20日 ~ 2015年07月24日	China National Convention Center (Beijing, China)

発表者名	発表標題	
Takaaki Miyamoto, Mai Kuribayashi, Satoshi Nagao, Yasuhito Shomura, Yoshiki Higuchi, Shun Hirota	Formation of Cytochrome cb562 Oligomers by Domain Swapping	
学会等名	発表年月日	発表場所
29th Annual Symposium of The Protein Society (国際学会)	2015年07月22日 ~ 2015年07月25日	Palau de Congressos de Barcelona (Barcelona, Spain)

発表者名	発表標題	
廣田俊	ドメインスワッピングとは？：タンパク質の超分子化	
学会等名	発表年月日	発表場所
第28回生物無機化学夏季セミナー (招待講演)	2015年08月28日 ~ 2015年08月30日	山喜旅館 (静岡県伊東市)

発表者名	発表標題	
Shun Hirota	Construction of Heme Protein Oligomers by Domain Swapping	
学会等名	発表年月日	発表場所
The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2015 (Pacifichem 2015) (招待講演) (国際学会)	2015年12月15日 ~ 2015年12月20日	Hilton Hawaiian Village (Honolulu, USA)

発表者名	発表標題	
Takaaki Miyamoto, Mai Kuribayashi, Satoshi Nagao, Yasuhito Shomura, Yoshiki Higuchi, Shun Hirota	Domain-swapped Cytochrome cb562 Dimer and Its Nanocage Encapsulating a Zn-SO ₄ Cluster in the Internal Cavity	
学会等名	発表年月日	発表場所
96th Spring Conference of the Chemical Society of Japan	2016年03月24日 ~ 2016年03月27日	Doshisha University (Kyotanabe, Kyoto)

(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

--