

様 式 Z - 7

平成 2 8 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) (一般) 4. 研究期間 平成 2 6 年度 ~ 平成 2 8 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(cyt) cのドメインスワップ2量体および3量体では、メチオニン (Met) 80がヘム鉄から解離する。そこで、cyt cのドメインスワッピングにおけるMet80のヘム鉄配位の役割を調べるため、Met80をアラニンに置換したヒトM80A cyt cを作製した。M80A cyt cの単量体および2量体は野生型 cyt cの単量体および2量体と類似した2次構造を有することがCDスペクトルから示唆された。M80A cyt c 2量体の示差走査熱量曲線には、野生型cyt c 2量体と同様、単量体への解離による負のピークが観測された。M80A cyt c 2量体の解離温度は61 °Cで野生型cyt c 2量体と同じ温度であったが、エンタルピー変化は -14 kcal/molであり、野生型cyt c 2量体の値 (-30 kcal/mol) に比べて絶対値が小さかった。この結果より、野生型 cyt cでは、2量体の解離後Met80はヘム鉄に配位し、単量体が安定化することが推測された。2量体の解離速度のアイリングプロットから2量体解離に伴う活性化エンタルピー変化を求めたところ、野生型とM80A cyt cでそれぞれ120 ± 10と110 ± 10 kcal/molと同程度であり、Met80が2量体の安定性へ及ぼす影響は小さいことが示唆された。以上の結果より、cyt cのヘム軸配位子であるMet80は単量体の安定性に寄与するが、2量体の安定性への影響は小さいことが判明した。また、*Allochromatium vinosum* 由来シトクロムc (AVCP) のドメインスワップ2量体を作製し、ドメインスワップ2量体1つと単量体2つから構成されるAVCP 4量体の立体構造を明らかにした。これらの知見はドメインスワッピングによるタンパク質の超分子化の理解と利用に役立つ。

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) ドメインスワッピング (8)

(注) ・印刷に当たっては、A 4 判 (縦長) ・両面印刷すること。

(1 / 1 2)

11. 現在までの進捗状況

(区分)

(理由)

28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 等

(今後の推進方策)

28年度が最終年度であるため、記入しない。

(次年度使用額が生じた理由と使用計画)

(理由)

28年度が最終年度であるため、記入しない。

(使用計画)

28年度が最終年度であるため、記入しない。

13. 研究発表 (平成 28 年度の研究成果)

〔雑誌論文〕 計 (5) 件 / うち査読付論文 計 (5) 件 / うち国際共著論文 計 (1) 件 / うちオープンアクセス 計 (0) 件

著者名		論文標題				
H. Kobayashi, S. Nagao, and S. Hirota		Characterization of Cytochrome c Membrane-Binding Site Using Cardiolipin-Containing Bicelles with NMR				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著	
Angewandte Chemie International Edition	有	55	2 0 1 6	14019-14022	-	
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)						
10.1002/anie.201607419						
オープンアクセス						
オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難						

著者名		論文標題				
M. Yamanaka, M. Hoshizumi, S. Nagao, R. Nakayama, N. Shibata, Y. Higuchi, and S. Hirota		Formation and Carbon Monoxide-Dependent Dissociation of Allochromatium vinosum Cytochrome c' Oligomers Using Domain-Swapped Dimers				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著	
Protein Science	有	26	2 0 1 7	464-474	-	
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)						
10.1002/pro.3090						
オープンアクセス						
オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難						

著者名		論文標題				
S. Yanagisawa, M. S. Deshpande, S. Hirota, T. Nakagawa, and T. Ogura		Improved Stopped-Flow Time-Resolved Resonance Raman Spectroscopy Device for Studying Enzymatic Reactions				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著	
Journal of Raman Spectroscopy	有	48	2 0 1 7	680-685	-	
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)						
10.1002/jrs.5100						
オープンアクセス						
オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難						

著 者 名		論 文 標 題 【掲載確定】				
S. Hirota, N. Yamashiro, Z. Wang, and S. Nagao		Effect of Methionine80 Heme Coordination on Domain Swapping of Cytochrome c				
雑 誌 名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著	
Journal of Biological Inorganic Chemistry	有	22	2 0 1 7	in press	-	
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)						
10.1007/s00775-017-1446-3						
オープンアクセス						
オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難						

著 者 名		論 文 標 題 【掲載確定】				
K. Yuyama, M. Ueda, S. Nagao, S. Hirota, T. Sugiyama, and H. Masuhara		A Single Spherical Assembly of Protein Amyloid Fibrils Formed by Laser Trapping				
雑 誌 名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著	
Angewandte Chemie International Edition	有	56	2 0 1 7	in press	該当する	
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)						
10.1002/anie.201702352						
オープンアクセス						
オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難						

〔学会発表〕 計(26)件/うち招待講演 計(5)件/うち国際学会 計(8)件

発 表 者 名	発 表 標 題	
山中優、星住誠人、長尾聡、廣田俊	四量体シトクロムc [*] の作製とCO分子結合・解離によるサイズ制御	
学 会 等 名	発 表 年 月 日	発 表 場 所
第16回日本蛋白質科学会年会	2016年06月07日 ~ 2016年06月09日	福岡国際会議場(福岡県福岡市)

発表者名	発表標 題	
宮本昂明、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c _{b562} 二量体が形成するZn-S04クラスター内包タンパク質ナノケージの結晶構造	
学 会 等 名	発表年月日	発表場 所
第16回日本蛋白質科学会年会	2016年06月07日 ~ 2016年06月09日	福岡国際会議場 (福岡県福岡市)

発表者名	発表標 題	
小林紀、長尾聡、廣田俊	溶液NMRによるシトクロムcとカルジオリピン含有バイセルの相互作用解析	
学 会 等 名	発表年月日	発表場 所
第26回金属の関与する生体関連反応シンポジウム	2016年06月17日 ~ 2016年06月18日	北海道大学 (北海道札幌市)

発表者名	発表標 題	
小林紀、長尾聡、廣田俊	バイセルを利用したシトクロムcの脂質膜結合部位のNMR研究	
学 会 等 名	発表年月日	発表場 所
第43回生体分子科学討論会	2016年06月24日 ~ 2016年06月25日	名古屋大学 (愛知県名古屋市)

発表者名	発表標 題	
Shun Hirota	Construction of Zn-Domain Swapping of c-Type Cytochromes and Myoglobin	
学 会 等 名	発表年月日	発表場 所
Ninth International Conference on Porphyrins and Phthalocyanines (招待講演) (国際学会)	2016年07月03日 ~ 2016年07月08日	Nanjing, China

発表者名	発表標 題	
Shun Hirota, Satoshi Nagao, Partha Pratim Parui, Megha Subhash Deshpande, Chunguang Ren, Yugo Hayashi, Takaaki Miyamoto, Yin-Wu Lin, and Yoshiki Higuchi	Domain Swapping in c-Type Cytochromes and Myoglobin	
学 会 等 名	発表年月日	発表場 所
30th Anniversary Symposium of the Protein Society (国際学会)	2016年07月16日 ~ 2016年07月19日	Baltimore, USA

発表者名	発表標 題	
Takaaki Miyamoto, Mai Kuribayashi, Satoshi Nagao, Yasuhito Shomura, Yoshiki Higuchi, and Shun Hirota	Construction of Zn-S04 Cluster-encapsulating Protein Nanocage by Domain Swapping	
学 会 等 名	発表年月日	発表場 所
30th Anniversary Symposium of the Protein Society (国際学会)	2016年07月16日 ~ 2016年07月19日	Baltimore, USA

発表者名	発表標 題	
Hisashi Kobayashi, Satoshi Nagao, and Shun Hirota	Characterization of the Interaction between Cyt c and Cardiolipin-incorporated by Solution NMR	
学 会 等 名	発表年月日	発表場 所
30th Anniversary Symposium of the Protein Society (国際学会)	2016年07月16日 ~ 2016年07月19日	Baltimore, USA

発表者名	発表標 題	
松本順文、REN Chunguang、山中優、長尾聡、廣田俊	過酸との反応によるシトクロムcのMet80の酸化修飾	
学 会 等 名	発表年月日	発表場 所
第10回バイオ関連化学シンポジウム	2016年09月07日 ~ 2016年09月09日	石川県立音楽堂・もてなしドーム地下イベント広場(石川県金沢市)

発表者名	発表標 題	
須田綾香、小林紀、長尾聡、柴田直樹、樋口芳樹、廣田俊	ミオグロビンのループ領域アミノ酸変異によるドメインスワップ二量体のデザイン	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第10回バイオ関連化学シンポジウム	2016年09月07日 ~ 2016年09月09日	石川県立音楽堂・もてなしドーム地下イベント広場 (石川県金沢市)

発表者名	発表標 題	
坂口美幸、山中優、廣田俊、石井邦彦、田原太平	二次元蛍光寿命相関分光法によるウマシトクロムcのフォールディング機構の研究	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第10回分子科学討論会	2016年09月13日 ~ 2016年09月15日	神戸ファッションマート (兵庫県神戸市)

発表者名	発表標 題	
Shun Hirota	Application of Supramolecular Science for Drug Design	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
The Symposium of Annual Scientific Meeting 2016 of Indonesian Pharmacist Association (招待講演) (国際学会)	2016年09月27日 ~ 2016年09月29日	Jogjakarta, Indonesia

発表者名	発表標 題	
Shun Hirota	Structure and Function of Heme Protein Oligomers Constructed by Domain Swapping	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
Japan-Korea-Taiwan Bioinorganic Chemistry Symposium (招待講演) (国際学会)	2016年09月29日 ~ 2016年09月30日	つくば国際会議場 (茨城県つくば市)

発表者名	発表標 題	
Hisashi Kobayashi, Satoshi Nagao, and Shun Hirota	Solution NMR Characterization of the Interaction between Cyt c and Cardiolipin-incorporated Bicelles	
学 会 等 名	発表年月日	発表場 所
第54回日本生物物理学会年会	2016年11月25日 ~ 2016年11月27日	つくば国際会議場 (茨城県つくば市)

発表者名	発表標 題	
Miyuki Sakaguchi, Masaru Yamanaka, Shun Hirota, Kunihiro Ishii, and Tahei Tahara	Analysis of Environment Dependent Dynamics of Cytochrome c on a Lipid Membrane by 2D Fluorescence Lifetime Correlation Spectroscopy	
学 会 等 名	発表年月日	発表場 所
第54回日本生物物理学会年会	2016年11月25日 ~ 2016年11月27日	つくば国際会議場 (茨城県つくば市)

発表者名	発表標 題	
Satoshi Nagao, Ayaka Suda, Hisashi Kobayashi, Naoki Shibata, Yoshiki Higuchi, and Shun Hirota	Formation of Myoglobin Dimers by Domain Swapping	
学 会 等 名	発表年月日	発表場 所
第54回日本生物物理学会年会	2016年11月25日 ~ 2016年11月27日	つくば国際会議場 (茨城県つくば市)

発表者名	発表標 題	
Shun Hirota, Satoshi Nagao, Masaru Yamanaka, and Yoshiki Higuchi	Construction of Heme Protein Supramolecules by Domain Swapping	
学 会 等 名	発表年月日	発表場 所
5th Symposium on Advanced Biological Inorganic Chemistry (招待講演) (国際学会)	2016年12月04日 ~ 2016年12月09日	Auckland, New Zealand

発表者名	発表標 題	
Shun Hirota, Satoshi Nagao, Masaru Yamanaka, and Yoshiki Higuchi	Cytochrome c: Domain Swapping, Self-Modification, and Molecular Recognition	
学 会 等 名	発表年月日	発表場 所
5th Symposium on Advanced Biological Inorganic Chemistry (招待講演) (国際学会)	2017年01月07日 ~ 2017年01月11日	Kolkata, India

発表者名	発表標 題	
Satoshi Nagao, Ayaka Suda, Hisashi Kobayashi, Naoki Shibata, Yoshiki Higuchi, and Shun Hirota	Design of Domain-swapped Myoglobin Dimer	
学 会 等 名	発表年月日	発表場 所
97th Chemical Society of Japan Annual Meeting	2017年03月16日 ~ 2017年03月19日	慶応義塾大学(神奈川県横浜市)

発表者名	発表標 題	
久保田真史, 宮本昂明, 廣田俊	Rhodospseudomonas palustris由来シクロムc の多量化	
学 会 等 名	発表年月日	発表場 所
日本化学会第97春季年会	2017年03月16日 ~ 2017年03月19日	慶応義塾大学(神奈川県横浜市)

発表者名	発表標 題	
Chieh-Ju Chang, Yugo Hayashi, Shun Hirota, Ken-ichi Yuyama, Teruki Sugiyama, and Hirotashi Masuhara	Laser Trapping Dynamics of Amyloid Fibril Formation of Cytochrome c Monomer and Dimers	
学 会 等 名	発表年月日	発表場 所
97th Chemical Society of Japan Annual Meeting	2017年03月16日 ~ 2017年03月19日	慶応義塾大学(神奈川県横浜市)

発表者名	発表標 題	
Hongxu Yang, Masaru Yamanaka, Satoshi Nagao, and Shun Hirota	Effect of Rare Codons on Hydrogenobacter thermophiles cyt c552 Oligomerization in E. coli Cells	
学 会 等 名	発表年月日	発表場 所
97th Chemical Society of Japan Annual Meeting	2017年03月16日 ~ 2017年03月19日	慶応義塾大学(神奈川県横浜市)

発表者名	発表標 題	
Masaru Yamanaka, Ryoko Nakayama, Satoshi Nagao, Makoto Hoshizumi, Naoki Shibata, Yoshiki Higuchi, and Shun Hirota	Formation of Cytochrome c Oligomers Using Domain-Swapped Dimers and Carbon Monoxide-Dependent Control of Oligomer Association/Dissociation	
学 会 等 名	発表年月日	発表場 所
97th Chemical Society of Japan Annual Meeting	2017年03月16日 ~ 2017年03月19日	慶応義塾大学(神奈川県横浜市)

発表者名	発表標 題	
Hisashi Kobayashi, Satoshi Nagao, and Shun Hirota	Characterization of the Cytochrome c Membrane-binding Site Using Solution NMR	
学 会 等 名	発表年月日	発表場 所
97th Chemical Society of Japan Annual Meeting	2017年03月16日 ~ 2017年03月19日	慶応義塾大学(神奈川県横浜市)

発表者名	発表標 題	
Takaaki Miyamoto and Shun Hirota	Protein Nanostructures Constructed by Fusing Two Oligomerization Domains with a 3-Helix Bundle Linker	
学 会 等 名	発表年月日	発表場 所
97th Chemical Society of Japan Annual Meeting	2017年03月16日 ~ 2017年03月19日	慶応義塾大学(神奈川県横浜市)

発表者名	発表標題	
Akiya Oda, Ikki Ueda, Masaru Yamanaka, Satoshi Nagao, Naoki Shibata, Yoshiki Higuchi, and Shun Hirota	Construction of a Triangle-shaped Structure with a Unit Protein Based on Cytochrome c555	
学会等名	発表年月日	発表場所
97th Chemical Society of Japan Annual Meeting	2017年03月16日 ~ 2017年03月19日	慶応義塾大学(神奈川県横浜市)

〔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

--