

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 基盤研究(A) (一般) 4. 研究期間 平成24年度～平成27年度
5. 課題番号 

2	4	2	4	7	0	3	0
---	---	---	---	---	---	---	---
6. 研究課題名 イエロープロテインの構造と光反応：一般性と多様性

## 7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
3 0 1 5 0 2 5 4	カタオカ ミキオ 片岡 幹雄	その他	理事・副学長

## 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
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
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

水溶性光受容蛋白質、イエロープロテイン（PYP）、を用いて、共通の構造基盤から機能や光反応の多様性を生む分子機構を明らかにすることを目的としている。光反応サイクルの寿命が大きく異なるhPYP、RcPYP、存在形態の異なるPprPYPについての解析を進めてきた。

PYPの構造、光反応の共通基盤として、発色団とE46の間に形成される低障壁水素結合（LBHB）と呼ばれる特殊な水素結合とLBHBの形成に共役したR52の脱プロトン化の関係を精密FTIR測定と理論計算を組み合わせて解析した。その結果、光反応におけるLBHBの解消と共役したR52のプロトン化反応機構を明らかにした。PYPの基盤となる発色団の光反応におけるLBHBの役割を見出した。

光反応サイクルの寿命が極端に長く、光反応時の構造変化も小さいRcPYPの性質を生む領域をキメラタンパク質の解析から抽出した。これらの領域は活性中心となるLBHBから比較的離れたタンパク質表面に存在し、長距離の相互作用によって吸収スペクトルや構造変化に寄与していた。この際、RcPYPの相互作用に寄与する部位としてC末端領域が抽出されたが、これは、全長Pprの光反応の解析から得られたPYPドメインの働きに通じるものと考えられた。このため、RcPYPのC末端部位の局所構造変化と相互作用を検証するため部位特異的システインプローブを用いたFTIR測定を行った。その結果、RcPYPの相互作用に伴ってC末端 シート部位での局所構造変化が見出された。多様な機能を生む部位がC末端に共通に存在していることを示した。

## 10. キーワード

- |               |             |            |                         |
|---------------|-------------|------------|-------------------------|
| (1) イェロープロテイン | (2) 低障壁水素結合 | (3) 光反応    | (4) 結晶構造解析              |
| (5) アルギニン     | (6) FTIR    | (7) キメラ蛋白質 | (8) 国際情報交換 (アメリカ、デンマーク) |

## 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 (4) 件 / うち査読付論文 計 (4) 件 / うち国際共著論文 計 (1) 件 / うちオープンアクセス 計 (4) 件

著者名		論文標題				
Y. Yoshimura, N. A. Oktaviani, K. Yonezawa, H. Kamikubo, F. A. A. Mulder		Unambiguous Determination of the Ionization State of a Photoactive Protein Active Site Arginine in Solution by NMR Spectroscopy				
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	有	56	2   0   1   6	239-242	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.201609605						
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)						

著者名		論文標題				
L. Zhang, H. Kondo, H. Kamikubo, M. Kataoka, W. Sakamoto		VIPP1 has a disordered C-terminal tail necessary for protecting photosynthetic membranes against stress in Arabidopsis				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著	
Plant Physiology	有	171	2   0   1   6	1983-1995	-	
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)						
10.1104/pp.16.00532						
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)						

著者名		論文標題				
Y. Kanematsu, H. Kamikubo, M. Kataoka, M. Tachikawa		Vibrational analysis on the revised potential energy curve of the low-barrier hydrogen bond in photoactive yellow protein				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著	
Computational and Structural Biotechnology Journal	有	14	2   0   1   5	16-19	-	
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)						
10.1016/j.csbj.2015.10.003						
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)						

(課題番号: 24247030)

(注) ・印刷に当たっては、A4判(縦長)・両面印刷すること。

(3/9)

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	国際共著	
PLoS One	有	10	2015	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						
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 ( 1 4 ) 件 / うち招待講演 計 ( 0 ) 件 / うち国際学会 計 ( 7 ) 件

発表者名		発表標題	
Chiaki Ota, Hiroko Tanaka, Yoichi Yamazaki, Mikio Kataoka, Hironari Kamikubo		Analysis of amyloid formation and inhibition mechanisms of human calcitonin	
学会等名	発表年月日	発表場所	
The Biophysical Society 60th Annual Meeting (国際学会)	2016年02月27日 ~ 2016年03月02日	Los Angeles, (California, USA)	

発表者名		発表標題	
Hironari Kamikubo, Keito Yoshida, Nobutaka Shimizu, Yoichi Yamazaki, Mikio Kataoka		Development of auto-sampling system designed for titration-saxs to investigate protein complexes under an equilibrium condition	
学会等名	発表年月日	発表場所	
The Biophysical Society 60th Annual Meeting (国際学会)	2016年02月27日 ~ 2016年03月02日	Los Angeles, (California, USA)	

発表者名		発表標題	
Mikio Kataoka, Hironari Kamikubo		Mechanism of amyloid formation of human calcitonin	
学会等名	発表年月日	発表場所	
The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2015 (国際学会)	2015年12月15日 ~ 2015年12月20日	Honolulu, (Hawaii, USA)	

( 課題番号 : 24247030 )

( 注 ) ・印刷に当たっては、A 4 判 ( 縦長 ) ・両面印刷すること。

発表者名	発表標 題	
Hikaru Kuramochi, Satoshi Takeuchi, Kento Yonezawa, Hironari Kamikubo, Mikio Kataoka, Tahei Tahara	Femtosecond time-resolved impulsive stimulated Raman study of the primary process of photoactive yellow protein	
学 会 等 名	発表年月日	発表場 所
The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2015 (国際学会)	2015年12月15日 ~ 2015年12月20日	Honolulu, (Hawaii, USA)

発表者名	発表標 題	
Philip Anfinrud, Friedrich Schotte, Hyun Sun Cho, John Kyndt, Hironari Kamikubo, Mikio Kataoka	Picosecond photobiology: Watching a signaling protein function in real time via 150-picosecond time-resolved X-ray diffraction and solution scattering	
学 会 等 名	発表年月日	発表場 所
The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2015 (国際学会)	2015年12月15日 ~ 2015年12月20日	Honolulu, (Hawaii, USA)

発表者名	発表標 題	
Jyunko. Makino, Keito. Yoshida, Y. Kubo, K. Baba, Y. Yamazaki, N. Inagaki, Mikio. Kataoka, Hironari. Kamikubo	Structural investigation of direct interaction between Shootin1 and cortactin by the titration SAXS measurements	
学 会 等 名	発表年月日	発表場 所
The 4th International Symposium on Dynamical Ordering of Biomolecular Systems for Creation of Integrated Functions (国際学会)	2015年11月21日 ~ 2015年11月23日	西新プラザ (福岡県福岡市)

発表者名	発表標 題	
Chiaki. Ota, Hiroko. Tanaka, T. Aizawa, Yoichi. Yamazaki, Mikio. Kataoka, Hironari. Kamikubo	Analysis of amyloid formation and inhibition mechanisms of human calcitonin	
学 会 等 名	発表年月日	発表場 所
The 4th International Symposium on Dynamical Ordering of Biomolecular Systems for Creation of Integrated Functions (国際学会)	2015年11月21日 ~ 2015年11月23日	西新プラザ (福岡県福岡市)

発表者名	発表標題	
Yoichi Yamazaki, Atsuhiko Kawamura, Mikio Kataoka, Hironari Kamikubo	Analysis of interaction sites on $\beta$ -scaffold region of Rhodobacter capsulatus Photoactive Yellow Protein	
学会等名	発表年月日	発表場所
第53回日本生物物理学会年会	2015年09月13日 ~ 2015年09月15日	金沢大学 (石川県金沢市)

発表者名	発表標題	
Kento Yonezawa, Hironari Kamikubo, Yusuke Kanematsu, Yoichi Yamazaki, Masanori Tachikawa, Mikio Kataoka	Protonation State of Arginine 52 in Photoactive Yellow Protein	
学会等名	発表年月日	発表場所
第53回日本生物物理学会年会	2015年09月13日 ~ 2015年09月15日	金沢大学 (石川県金沢市)

発表者名	発表標題	
Keito Yoshida, Kento Yonezawa, Yoichi Yamazaki, Mikio Kataoka, Hironari Kamikubo	Effects of chromophores of PYP - Phytochrome Related Protein on the structure	
学会等名	発表年月日	発表場所
第53回日本生物物理学会年会	2015年09月13日 ~ 2015年09月15日	金沢大学 (石川県金沢市)

発表者名	発表標題	
Yuji Konno, Takeshi Inagaki, Hironari Kamikubo, Mikio Kataoka	Intramolecular interaction as a determination factor for structure elements of proteins	
学会等名	発表年月日	発表場所
第53回日本生物物理学会年会	2015年09月13日 ~ 2015年09月15日	金沢大学 (石川県金沢市)

発表者名	発表標題	
Miho Shinohara, Hironari Kamikubo, Keito Yoshida, Yoichi Yamazaki, Kazuhisa Nakayama, Soichi Wakatsuki, Mikio Kataoka	Interaction/Structure analysis of GGA-Ubiquitin complex by using titration SAXS Measurement	
学会等名	発表年月日	発表場所
第53回日本生物物理学会年会	2015年09月13日 ~ 2015年09月15日	金沢大学 (石川県金沢市)

発表者名	発表標題	
Junko Makino, Hironari Kamikubo, Yoichi Yamazaki, Mikio Kataoka, Keito Yoshida, Naoyuki Inagaki, Yusuke Kubo, Kentarou Baba	Structural investigation of direct interaction between Shootin1 and cortactin by the titration SAXS measurements	
学会等名	発表年月日	発表場所
第53回日本生物物理学会年会	2015年09月13日 ~ 2015年09月15日	金沢大学 (石川県金沢市)

発表者名	発表標題	
Tomoyuki Yasumuro, Yoichi Yamazaki, Mikio Kataoka, Hironari Kamikubo	The role of N-terminal region of PYP binding protein at the formation of complex with Rc-PYP	
学会等名	発表年月日	発表場所
第53回日本生物物理学会年会	2015年09月13日 ~ 2015年09月15日	金沢大学 (石川県金沢市)

〔図書〕 計(3)件

著者名	出版社		
片岡幹雄	朝倉書店		
書名	発行年	総ページ数	
光と生命の事典	2016	436(354-355)	

(課題番号: 24247030)

(注)・印刷に当たっては、A4判(縦長)・両面印刷すること。

(7/9)

著者名		出版社	
F. Schotte, H.-S. Cho, H. Kamikubo, M. Kataoka		Springer	
書名		発行年	総ページ数
Molecular Science of Fluctuations Toward Biological Functions		2   0   1   6	270(65-85)

著者名		出版社	
M. Kataoka		Springer	
書名		発行年	総ページ数
Molecular Science of Fluctuations Toward Biological Functions		2   0   1   6	270(151-161)

## 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 : 国際共同研究である

共同研究相手国	相手方研究機関			
デンマーク	Aarhus university	-	-	-
アメリカ	NIDDK, National Institutes of Health	-	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-
-	/	/	/	/

## 17. 備考