

様式 C - 7 - 1

平成 29 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）

所属研究機関名称		奈良先端科学技術大学院大学	機関番号	14603
研究代表者	部局	先端科学技術研究科		
	職	教授		
	氏名	上久保 裕生		

1. 研究種目名 新学術領域研究（研究領域提案型） 2. 課題番号 25102003

3. 研究課題名 機能を生み出す単位生体分子集団（機能モジュール）の動的秩序の探査

4. 研究期間 平成 25 年度～平成 29 年度 5. 領域番号・区分 2501 計画研究

## 6. 研究実績の概要

本研究では、タンパク質分子と細胞の中間階層に位置するタンパク質集団の動的秩序を明らかにすることを目的とし、量子ビーム溶液散乱測定法と新たに開発した  $\mu$  流路デバイスを組み合わせた連続測定 X 線溶液散乱測定法を考案し実用化してきた。当該年度は、 $\mu$  流路デバイスの改良を行うと同時に、昨年度から継続して行ってきた神経軸索伸長に関わるタンパク質集団の解析を進めた。これまで PDMS 製の  $\mu$  流路デバイスを用いてきたが、PDMS は柔らかいため高流速時の脈動や耐圧安定性に問題があった。そこで、素材を PDMS から金属に変更し、新たな金属製  $\mu$  流路デバイスを作製した。この結果、耐圧性能や流速安定性を向上することに成功し、より精度の高い解析ができるようになった。これに加え、従来、1 デバイスあたり 10 万円かかっていたコストを 3 万円まで下げることができ、協力企業（ユニソク社）が製品化し高エネルギー加速器研究機構放射光実験施設に納品され一般共同利用に供されるに至った。神経軸索伸長に関わるタンパク質集団 (shoot in1/cortactin/L1-CAM) に関しては、リン酸化調整を受ける shoot in1 に注目し、2 つあるリン酸化部位 (セリン) を失活させた変異体を系統的に作製し、リン酸化と shoot in1 の構造変化を比較した。これらのセリンのリン酸化速度は大きく異なり、結果として shoot in1 は 1 つのセリンがリン酸化した状態と 2 つのセリンがリン酸化した状態の 2 つのリン酸化状態が存在することが明らかとなった。更に、両者は構造が異なり、shoot in1 が作用する cortactin と L1-CAM の結合が速度論的に調節を受けていることが示唆された。

## 7. キーワード

X 線溶液散乱 タンパク質 多成分平衡状態 相互作用解析  $\mu$  流路 分子複合系

## 8. 現在までの進捗状況

区分	
理由	平成 29 年度が最終年度であるため、記入しない。

2 版

## 9. 今後の研究の推進方策

平成29年度が最終年度であるため、記入しない。

## 10. 研究発表（平成29年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件 / うち国際共著論文 3件 / うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Oktaviani Nur Alia, Pool Trijntje J., Yoshimura Yuichi, Kamikubo Hironari, Scheek Ruud M., Kataoka Mikio, Mulder Frans A.A.	4. 巻 112
2. 論文標題 Active-Site pKa Determination for Photoactive Yellow Protein Rationalizes Slow Ground-State Recovery	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Biophysical Journal	6. 最初と最後の頁 2109 ~ 2116
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） org/10.1016/j.bpj.2017.04.008	査読の有無 有
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）	国際共著 該当する
1. 著者名 Kawatani Ryo, Nishiyama Yasuhiro, Kamikubo Hironari, Kakiuchi Kiyomi, Ajiro Hiroharu	4. 巻 12
2. 論文標題 Aggregation Control by Multi-stimuli-Responsive Poly(N-vinylamide) Derivatives in Aqueous System	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Nanoscale Research Letters	6. 最初と最後の頁 461
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s11671-017-2221-7	査読の有無 有
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）	国際共著 -
1. 著者名 Nawata Marina, Tsutsumi Hiroataka, Kobayashi Yuta, Unzai Satoru, Mine Shouhei, Nakamura Tsutomu, Uegaki Koichi, Kamikubo Hironari, Kataoka Mikio, Hamada Daizo	4. 巻 284
2. 論文標題 Heat-induced native dimerization prevents amyloid formation by variable domain from immunoglobulin light-chain RE1	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 The FEBS Journal	6. 最初と最後の頁 3114 ~ 3127
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/febs.14181	査読の有無 有
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）	国際共著 -

1. 著者名 Yonezawa Kento, Shimizu Nobutaka, Kurihara Kazuo, Yamazaki Yoichi, Kamikubo Hironari, Kataoka Mikio	4. 巻 7
2. 論文標題 Neutron crystallography of photoactive yellow protein reveals unusual protonation state of Arg52 in the crystal	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 9361
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-09718-9	査読の有無 有
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)	国際共著 -

1. 著者名 Satoh Tadashi, Song Chihong, Zhu Tong, Toshimori Takayasu, Murata Kazuyoshi, Hayashi Yugo, Kamikubo Hironari, Uchihashi Takayuki, Kato Koichi	4. 巻 7
2. 論文標題 Visualisation of a flexible modular structure of the ER folding-sensor enzyme UGGT	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 12142
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-12283-w	査読の有無 有
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)	国際共著 -

1. 著者名 Bernad Pau, Shimizu Nobutaka, Zaccai Giuseppe, Kamikubo Hironari, Sugiyama Masaaki	4. 巻 1862
2. 論文標題 Solution scattering approaches to dynamical ordering in biomolecular systems	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects	6. 最初と最後の頁 253 ~ 274
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbagen.2017.10.015	査読の有無 有
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)	国際共著 該当する

1. 著者名 Yamaguchi Mariko, Ohta Emi, Muto Takuya, Watanabe Takayoshi, Hohsaka Takahiro, Yamazaki Yoichi, Kamikubo Hironari, Kataoka Mikio	4. 巻 10
2. 論文標題 Statistical description of the denatured structure of a single protein, staphylococcal nuclease, by FRET analysis	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Biophysical Reviews	6. 最初と最後の頁 145 ~ 152
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12551-017-0334-y	査読の有無 有
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)	国際共著 該当する

2 版

1. 著者名 KAMIKUBO Hironari	4. 巻 17
2. 論文標題 Development of $\mu$ -fluidics Based Auto Sampling System Designed for Continuous Titration SAXS Experiments	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Computer Chemistry, Japan	6. 最初と最後の頁 57~64
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) org/10.2477/jccj.2018-0008	査読の有無 有
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)	国際共著 -

〔学会発表〕 計19件(うち招待講演 7件/うち国際学会 5件)

1. 発表者名 Hironari Kamikubo
2. 発表標題 Multi-component equilibrium in biological systems explored by using continuous titration SAXS
3. 学会等名 Frontier Bioorganization Forum 2017 Dynamical ordering and integrated functions of biomolecular systems (招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 上久保 裕生
2. 発表標題 機能を生み出す単位生体分子集団(機能モジュール)の動的秩序の探査
3. 学会等名 平成29年度新学術領域研究「動的秩序と機能」全体班会議
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 上久保 裕生, 山崎 洋一
2. 発表標題 Structure-based analysis on the equilibrium state of a multi-component system
3. 学会等名 第17回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Jia-Siang Sum、山崎 洋一、林 有吾、上久保 裕生
2. 発表標題 Photoproducts of PYP Phytochrome Related (Ppr) protein accumulated under various illumination conditions
3. 学会等名 第17回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hironari Kamikubo
2. 発表標題 Structural Exploring Multi-component Equilibrium in Biological Systems
3. 学会等名 the 24th Congress & General Assembly of the International Union of Crystallography (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yoichi Yamazaki, Yohei Shibata, Yugo Hayashi, Nathumi Endo, Kentaro Ishii, Susumu Uchiyama, Takayuki Uchihashi, Hironari Kamikubo
2. 発表標題 Light dependent multiple complex formation of Rc-PYP
3. 学会等名 第55回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yugo Hayashi, Tomoaki Murakami, Mai Arakawa, Keito Yoshida, Yoichi Yamazaki, Takehiro K. Sato, Hironari Kamikubo
2. 発表標題 Self-assembly of nanofibers from spider silk fibroin
3. 学会等名 第55回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2017年

2 版

1. 発表者名 Yasumichi Takase, Yugo Hayashi, Yoichi Yamazaki, Hironari Kamikubo
2. 発表標題 Structure elements are closely related to intramolecular residue-residue contacts
3. 学会等名 第55回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Jia Siang Sum, Yoichi Yamazaki, Yugo Hayashi, Hironari Kamikubo
2. 発表標題 Influence of the PYP domain on Photoreaction of the phytochrome domain in Ppr
3. 学会等名 第55回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Shoki Nakata, Kentarou Baba, Yugo Hayashi, Yoichi Yamazaki, Naoyuki Inagaki, Hironari Kamikubo
2. 発表標題 Multiple phosphorylated species of shootin1 and their solution structure
3. 学会等名 第55回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 上久保 裕生
2. 発表標題 複数混合溶液中に存在する生体高分子の構造・相互作用評価
3. 学会等名 分子・物質合成プラットフォーム、大学連携研究設備ネットワーク主催 「ソフトでウェットな素材のやさしい観察」(招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 上久保 裕生
2. 発表標題 連続滴定溶液散乱測定による蛋白質分子複合系の多成分平衡状態の解析
3. 学会等名 第40回溶液化学シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 上久保 裕生
2. 発表標題 混合溶液中の蛋白質分子複合系の構造・相互作用評価～デバイス開発とその応用～
3. 学会等名 日本学術振興会 構造生物第169委員会 第54回研究会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 片岡幹雄、米澤健人、清水伸隆、栗原和夫、上久保裕生
2. 発表標題 イエロープロテインの中性子結晶構造解析
3. 学会等名 日本中性子科学会 第17回年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 上久保 裕生
2. 発表標題 連続滴定溶液散乱による多成分系解析の標準化
3. 学会等名 第4回タンパク質X線溶液散乱講習会（招待講演）
4. 発表年 2017年

2 版

1. 発表者名 Hironari Kamikubo
2. 発表標題 Structural Exploring Multi-component Equilibrium in Biological Systems by using Continuous Titration SAXS
3. 学会等名 The6th International Symposium on Dynamical Ordering of Biomolecular Systems for Creation of Integrated Functions (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shoki Nakata , Kentarou Baba, Yugo Hayashi, Yoichi Yamazaki, Naoyuki Inagaki, Hironari Kamikubo
2. 発表標題 Multiple phosphorylation and structural alteration of shootin1
3. 学会等名 The 6th International Symposium on Dynamical Ordering of Biomolecular Systems for Creation of Integrated Functions (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Endo Natsumi, Yugo Hayashi, Miho Shinohara, Keito Yoshida, Yoichi Yamazaki, Hironari Kamikubo
2. 発表標題 Structure and interaction analysis of the complex molecular systems (GGA/Arf/MPR/Ub) involved in Clathrin-coated vesicles
3. 学会等名 The 6th International Symposium on Dynamical Ordering of Biomolecular Systems for Creation of Integrated Functions (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 上久保 裕生
2. 発表標題 光による蛋白質分子複合系の自由エネルギーランドスケープの変調
3. 学会等名 日本化学会 第98回春季年会 (2018) (招待講演)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

1 1 . 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

計0件（うち出願0件 / うち取得0件）

1 2 . 科研費を使用して開催した国際研究集会

計0件

1 3 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

-

1 4 . 備考

-