

平成 19 年度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 特定領域研究 4. 研究期間 平成 15 年度 ~ 平成 19 年度
5. 課題番号 1 5 0 7 6 2 0 8
6. 研究課題名 機能的タンパク質の動力学と折り畳み

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	<small>カタオカ、ミキオ</small> 片岡 幹雄	物質創成科学研究科	教授

8. 研究分担者(所属研究機関名については、研究代表者の所属研究機関と異なる場合のみ記入すること。)

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名
4 0 3 3 2 7 7 0	<small>ヤマサキ、ヨウイチ</small> 山崎 洋一	物質創成科学研究科	助教
	<small>フガナ</small>		
	<small>フガナ</small>		
	<small>フガナ</small>		
	<small>フガナ</small>		

9. 研究実績の概要(国立情報学研究所でデータベース化するため、600字~800字で記入。図、グラフ等は記載しないこと。)

下欄には、当該年度に実施した研究の成果について、その具体的内容、意義、重要性等を、交付申請書に記載した「研究の目的」、「研究実施計画」に照らし、600字~800字で、できるだけ分かりやすく記述すること。また、国立情報学研究所でデータベース化するため、図、グラフ等は記載しないこと。

機能的タンパク質の典型として水溶性光受容タンパク質イエロープロテイン(PYP)および核酸分解酵素(SNase))を用いて、折り畳みおよび機能発現に伴う動力学に関する研究を行った。世界的に重要視されているタンパク質動力学に関する中性子非弾性散乱を用いた研究は、日本では我々のグループだけが行っている。

1. PYP光反応中間体の溶液構造:PYPの活性光反応中間体であるM中間体の溶液構造を高角X線溶液散乱と揺らぎ解析の手法により明らかにした。発色団での光吸収の情報は、 α 4ヘリックス、 β 4と β 5のループおよびN端領域に伝播される。NMR溶液構造解析の結果は、必ずしも正確ではなく、局所的な変化を精度よく検出するが、大域的な構造変化に対してはあいまいさが残ることを示した。
2. 誘導折り畳みの機構:近年、天然変性タンパク質(IDP)の存在が脚光を浴びている。IDPは、生理的条件下では構造を取らず、標的との結合により折り畳まれる(誘導折り畳み)。我々は誘導折り畳みを示すSNase変異体を多種類創出した。阻害剤による誘導折り畳みの速度論的測定から、 $D \leftrightarrow DI \rightarrow FL$ の反応に従うものと、 $D \leftrightarrow F \rightarrow FL$ の反応に従うものが存在することを示した(D、F、Lは変性状態、天然状態、リガンドを表す)。前者は結合がフォールディングに先立って起きると言うモデルである。両方のメカニズムが起きることを明確に示したのは世界で初めてである。
3. 動力学に対する水和効果:中性子非弾性散乱により動力学に対する水和の効果の詳細に調べた。水和の効果は、5meV以下の低エネルギー領域にのみ現れる。低温ではボソンピークと呼ばれる励起モードが現れるが、水和により、ボソンピークの位置は高エネルギー側にシフトした。この結果は、水和水による水素結合がタンパク質を硬くすることを示しており、城地らによる理論からの予測を裏付けるものである。

※ 成果の公表を見合わせる必要がある場合は、その理由及び差し控え期間等を記入した調査(A4判縦長横書1枚)を添付すること。

10. キーワード

- | | | |
|---------------|--------------|------------|
| (1) 生物物理 | (2) 蛋白質 | (3) 動力学 |
| (4) 折り畳み | (5) 中性子非弾性散乱 | (6) 高角溶液散乱 |
| (7) 天然変性タンパク質 | (8) 光反応中間体 | |

(裏面に続く)

11.研究発表（平成19年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計（13）件

著者名	論文標題			
Kumiko Shirai	Attempt to simplify the amino-acid sequence of photoactive yellow protein with a set of simple rules.			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Proteins: Structure, Function and Bioinformatics	有	67	2017	821-833

著者名	論文標題			
Hironari Kamikubo	Characterization of the solution structure of the M intermediate of photoactive yellow protein using high-angle solution x-ray scattering.			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Biophysical Journal	有	92	2017	3633-3642

著者名	論文標題			
Koichi Matsuo	Secondary-structure analysis of denatured proteins by vacuum-ultraviolet circular dichroism spectroscopy.			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Biophysical Journal	有	92	2017	4088-4096

著者名	論文標題			
Atsushi Tokuhisa	Non-Gaussian behavior of elastic incoherent neutron scattering profiles of proteins studied by molecular dynamics simulation.			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Physical Review E	有	75	2017	041912(1-7)

著者名	論文標題			
Yoshimitsu Shimomura	Characterization and crystallization of an IscU-type scaffold protein with bound [2Fe 2S] cluster from the hyperthermophile, <i>Aquifex aeolicus</i> .			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Journal of Biochemistry	有	142	2017	577-586

著者名	論文標題			
Yuji Hoshihara	Conformational changes in the N-terminal region of photoactive yellow protein: A time-resolved diffusion study.			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Biophysical Journal	有	94	2018	2187-2193

著者名	論文標題			
Yasumasa Joti	Hydration-dependent protein dynamics revealed by molecular dynamics simulation of crystalline Staphylococcal nuclease.			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Journal of Physical Chemistry B	有	112	2018	3522-3528

著者名	論文標題			
Yasushi Imamoto	Diverse roles of glycine residues conserved in photoactive yellow proteins.			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Biophysical Journal	有	94	2018	印刷中

著者名	論文標題			
Yoichi Yamazaki	Role of the N-terminal region in the function of the photosynthetic bacterium transcription regulator PpsR.			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Photochemistry and Photobiology	有		2018	印刷中

著者名	論文標題			
Masayoshi Onitsuka	Mechanism of induced folding: Both folding before binding and binding before folding can be realized in staphylococcal nuclease mutants.			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Proteins: Structure, Function and Bioinformatics	有		2 10 18	印刷中

著者名	論文標題			
Yasumasa Joti	Hydration effects on low-frequency protein dynamics observed in simulated neutron scattering spectra.			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Biophysical Journal	有	94	2 10 18	印刷中

著者名	論文標題			
Hironari Kamikubo	The photoreaction of the photoactive yellow protein domain in the light sensor histidine kinase Ppr is influenced by the C-terminal domains.			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Photochemistry and Photobiology	有		2 10 18	印刷中

著者名	論文標題			
Yasushi Imamoto	Low-temperature spectroscopy of Met100Ala mutant of photoactive yellow protein.			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Photochemistry and Photobiology	有		2 10 18	印刷中

〔学会発表〕計(14)件

発表者名	発表標題	
片岡幹雄	Structure of the photointermediate of PYP revealed by wide-angle X-ray solution scattering and fluctuation analysis.	
学会等名	発表年月日	発表場所
Telluride Conference on Protein Dynamics	2007年7月31日	テルライド (アメリカ合衆国コロラド州)

発表者名	発表標題	
片岡幹雄	Effect of hydration on the glass-like transition of protein.	
学会等名	発表年月日	発表場所
Fukuoka International Workshop on Unifying Concepts of Glass Transition	2007年11月23日	福岡

発表者名	発表標題	
片岡幹雄	Structure of the photointermediate of PYP and the propagation mechanism of structural change.	
学会等名	発表年月日	発表場所
Gordon Research Conference on Photosensory Receptors & Signal Transduction	2008年1月30日	ヴェンチュラ (アメリカ合衆国カリフォルニア州)

発表者名	発表標題	
上久保裕生	Solution structural analysis of GGA(VHS-GAT) and the complexes with its binding partners using solution X-ray scattering.	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 9th International Conference on Biology and Synchrotron Radiation	2007年8月15日	マンチェスター (連合王国)

発表者名	発表標題	
片岡幹雄	Wide angle X-ray solution scattering reveals the structure of photointermediate of photoactive yellow protein.	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 9th International Conference on Biology and Synchrotron Radiation	2007年8月15日	マンチェスター (連合王国)

発表者名	発表標 題	
山口繁生	Determination of hydrogen positions of photoactive yellow protein.	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
The 9th International Conference on Biology and Synchrotron Radiation	2007年8月15日	マンチェスター (連合王国)

発表者名	発表標 題	
片岡幹雄	中性子散乱によるタンパク質動力学的研究	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第55回応用物理学関係連合講演会	2008年3月27日	船橋

発表者名	発表標 題	
鬼塚正義	C末端欠損スタフィロコッカルスクレアーゼが示す誘導折り畳み反応の分子メカニズム	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第45回生物物理学学会年会	2007年12月22日	横浜

発表者名	発表標 題	
澤田宏起	アラニン挿入変異が折れ畳み過程に及ぼす影響	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第45回生物物理学学会年会	2007年12月22日	横浜

発表者名	発表標 題	
政さやか	ジヒドロ葉酸還元酵素におけるフォールディングエレメントや活性部位の接続部位に含まれる情報の抽出	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第45回生物物理学学会年会	2007年12月23日	横浜

発表者名	発表標 題	
芝るみ	網羅的アラニン挿入変異法によるジヒドロ葉酸還元酵素の構造形成および機能発現領域の抽出	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第45回生物物理学学会年会	2007年12月23日	横浜

発表者名	発表標 題	
永田大介	Ala/ValスキャニングによるPhotoactive Yellow Proteinの構造・機能に対する重要なアミノ酸残基のマッピング	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第45回生物物理学学会年会	2007年12月23日	横浜

発表者名	発表標 題	
山口繁生	Photoactive Yellow Proteinを用いた中性子結晶構造解析	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第45回生物物理学学会年会	2007年12月23日	横浜

発表者名	発表標 題	
今元泰	イエロープロテインの光反応サイクルにおける構造変化メカニズム	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
第45回生物物理学学会年会	2007年12月23日	横浜

〔図書〕 計（ 0 ）件

著者名	出版社		
書名	発行年	総ページ数	
	■ ■ ■		

12. 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

13. 備考

※ 研究者又は所属研究機関が作成した研究内容又は研究成果に関するwebページがある場合は、URLを記載すること。

<http://mswebs.naist.jp/LABs/kataoka/index.html>