

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 若手研究 (B) 4. 研究期間 平成 18 年度 ~ 平成 19 年度
5. 課題番号 1 8 7 7 0 1 3 6
6. 研究課題名 クラスリン小胞輸送に関与する蛋白質群の蛋白質-蛋白質相互作用の構造学的解析

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
2 0 3 1 1 1 2 8	<small>刀加ナ カミクボ, ヒロナリ</small> 上久保, 裕生	物質創成科学研究科	准教授

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
.....	<small>刀加ナ</small>		
.....	<small>刀加ナ</small>		
.....	<small>刀加ナ</small>		
.....	<small>刀加ナ</small>		
.....	<small>刀加ナ</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。

本研究では、ゴルジ体において積み荷蛋白質を認識し選別しているマルチドメイン蛋白質(GGA)に注目しその機能解明を目的として、X線溶液散乱測定法を用い、ドメイン配置構造や相互作用蛋白質結合時のドメイン配置構造変化を解析してきた。ドメイン間や、マルチドメイン-相互作用蛋白質間の相互作用は一般に弱く、解離定数は数 μ ~数100 μ M程度の値を示す。このような弱い相互作用で関連づけられた複合体の溶液構造を解析するために、新たに滴定X線溶液散乱測定法を考案してきた。その結果、GGA1蛋白質に低分子量G蛋白質が結合することによって、ドメイン配置構造に変化が生じ、各ドメインの露出表面が変化することを明らかにしてきた。この形態変化から、ドメイン配置構造変化によって、標的蛋白質との親和性が、調節されていることが示唆された。実際、このドメイン再配置によって、他のドメインの相互作用蛋白質(積み荷蛋白質受容体)に対する結合親和性に変化が見られることが、滴定X線溶液散乱によって明らかにされた。これは、ドメイン再配置を介した、標的蛋白質結合調節機構を直接観測した最初の研究結果である。

更に、GGAの他のホモログについても同様に、ドメイン配置構造を解析した結果、GGA1が溶液中で単量体として存在しているのに対し、GGA3は、GGA1単量体構造を基本構造単位とした2量体として存在していることが明らかとなった。更に、低分子量G蛋白質存在下での溶液構造を解析したところ、GGA3の2量体は解離し、GGA1・低分子量G蛋白質複合体と同様の形態を示すことが明らかとなった。これまでの報告によると、GGA1とGGA3は、非常に類似したドメインからなるにもかかわらず、輸送に対する役割が異なっていることが示唆されている。特に、GGA1は、単独でクラスリン被覆小胞輸送するのではなく、他のアダプター蛋白質と共役して初めて被覆小胞を輸送できるようになる可能性が示唆されている。現在は、会合体型性能の違いが、単独でのクラスリン被覆小胞形成能に関与しているのではないかと考え、引き続き研究を進めている。

※ 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) クラスリン被覆小胞輸送 (2) X線溶液散乱 (3) マルチドメイン蛋白質
 (4) ドメイン配置構造 (5) (6)
 (7) (8) (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(10)件

著者名	論文標題			
K. Shirai, Y. Yamazaki, H. Kamikubo, Y. Imamoto and M. Kataoka	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: Structu. Funct. Bioinformat	有り	67	2007	821-833

著者名	論文標題			
H. Kamikubo, N. Shimizu, M. Harigai, Y. Yamazaki, Y. Imamoto and M. Kataoka	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
Biophys. J.	有り	92	2010	3633-3642

著者名	論文標題			
L. Chavas, S. Torii, H. Kamikubo, M. Kawasaki, K. Ihara, R. Kato, M. Kataoka, T. Izumi and S. Wakatsuki	Structure of Rab27b small GTPase shows an unexpected swapped dimer			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Acta Cryst. D	有り	63	2007	769-779

著者名	論文標題			
M. Inoue, T. Shiba, K. Ihara, Y. Yamada, S. Hirano, H. Kamikubo, M. Kataoka, M. Kawasaki, R. Kato, K. Nakayama and S. Wakatsuki	Molecular Basis for Autoregulatory Interaction between GAE Domain and Hinge Region of GGA1			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Traffic	有り	8	2010	904-913

著者名	論文標題			
Y. Shimomura, H. Kamikubo, Y. Nishi, T. Masako, M. Kataoka, Y. Kobayashi, K. Fukuyama, and Y. Takahashi.	Characterization and Crystallization of an IseU-type Scaffold Protein with Bound [2Fe 2S] Cluster from the Hyperthermophile, Aquifex aeolicus			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
J Biochem.	有り	142	2007	577-586

著者名	論文標題			
M. Onitsuka, H. Kamikubo, Y. Yamazaki, and M. Kataoka	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: Structu. Funct. Bioinformat	有り	In press		

著者名	論文標題			
Y. Yamazaki, H. Fukuzumi, H. Kamikubo, and M. Kataoka.	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
Photochem. Photobiol	有り	In press		

著者名	論文標題			
H. Kamikubo, T. Koyama, M. Hayashi, K. Shirai, Y. Yamazaki, Y. Imamoto, and M. Kataoka	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
Photochem. Photobiol	有り	In press	■■■	

著者名	論文標題			
Y. Imamoto, S. Tatsumi, M. Harigai, Y. Yamazaki, H. Kamikubo and M. Kataoka	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
Biophys. J	有り	In press	■■■	

著者名	論文標題			
M. S. Yousef, H. Kamikubo, M. Kataoka, R. Kato, S. Wakatsuki	Miranda cargo-binding domain forms an elongated coiled-coil homodimer in solution: Implications for asymmetric cell division in Drosophila			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Protein Sci.	有り	In press	■■■	

〔学会発表〕計 (20) 件

発表者名	発表標題	
Kamikubo H., Sawada H., and Kataoka M	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
9th International Conference on Biology and Synchrotron Radiation	August, 13-17, 2007	England

発表者名	発表標題	
H. Kamikubo, K. Hirako, H. Sawada, M. Kawasaki, R. Kato, K. Nakayama, S. Wakatsuki, M. Kataoka	Solution structural analysis of GGA 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
9th International Conference on Biology and Synchrotron Radiation	August, 13-17, 2007	England

発表者名	発表標題	
Yamaguchi S., Kamikubo H., Kurihara K., Shimizu N., Yamazaki Y., Ohnishi Y., Kuroki R., Niimura N., and Kataoka M.	Determination Of Hydrogen Positions Of Photoactive Yellow Protein.	
学会等名	発表年月日	発表場所
9th International Conference on Biology and Synchrotron Radiation	August, 13-17, 2007	England

発表者名	発表標題	
Yamaguchi S., Kamikubo H., Kurihara K., Shimizu N., Yamazaki Y., Ohnishi Y., Kuroki R., Niimura N., and Kataoka M	Determination of hydrogen positions of photoactive yellow protein	
学会等名	発表年月日	発表場所
2nd International Symposium on Diffraction Structural Biology	September, 10-13, 2007	Tokyo(Japan)

発表者名	発表標題
Kato S., Kamikubo H., Kataoka	Elucidation of the folding process of the disulfide-bond introduced mutant

M	nts of Staphylococcal nuclease	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 5th Open Workshop for "Chemistry of Biological Processes Created by Water and Biomolecules"	January, 24-25, 2008	Nara(Japan)

発表者名	発表標題	
Sawada H., Kamikubo H., Onitsuka M., Yamazaki Y., and Kataoka M	The effect of alanine insertion for folding process	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 5th Open Workshop for "Chemistry of Biological Processes Created by Water and Biomolecules"	January, 24-25, 2008	Nara(Japan)

発表者名	発表標題	
Shiba R., Kamikubo H., Umejima M., Yamazaki Y., Iwakura M., and Kataoka M	Extraction of the regions encoded foldability and/or functionability from dihydrofolate reductase by a systematic alanine insertion	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 5th Open Workshop for "Chemistry of Biological Processes Created by Water and Biomolecules"	January, 24-25, 2008	Nara(Japan)

発表者名	発表標題	
Yamaguchi S., Kamikubo H., Kurihara K., Yamazaki Y., Ohnishi Y., Kuroki R., Niimura N., and Kataoka M	Direct observation of short hydrogen bond in Photoactive Yellow Protein by neutron crystallographic study	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 5th Open Workshop for "Chemistry of Biological Processes Created by Water and Biomolecules"	January, 24-25, 2008	Nara(Japan)

発表者名	発表標題	
Onitsuka M., Kamikubo H., Yamazaki Y., and Kataoka M	Molecular mechanism of induced folding of C-terminal truncated staphylococcal nuclease	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 5th Open Workshop for "Chemistry of Biological Processes Created by Water and Biomolecules"	January, 24-25, 2008	Nara(Japan)

発表者名	発表標題	
上久保裕生、山崎洋一、片岡幹雄	研究室系X線溶液散乱装置の立ち上げ	
学会等名	発表年月日	発表場所
第45回生物物理学会	2007年12月21～23日	横浜

発表者名	発表標題	
鬼塚正義、上久保裕生、山崎洋一、片岡幹雄	C末端欠損スタフィロコッカルヌ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回生物物理学会	2007年12月21～23日	横浜

発表者名	発表標題	
澤田宏起、上久保裕生、鬼塚正義、山崎洋一、片岡幹雄	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回生物物理学会	2007年12月21～23日	横浜

発表者名	発表標題	
------	------	--

政さやか、上久保裕生、梅山美香、山崎洋一、巖倉正寛、片岡幹雄、	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回生物物理学会	2007年12月21～23日	横浜

発 表 者 名	発 表 標 題	
芝るみ、上久保裕生、梅山美香、山崎洋一、巖倉正寛、片岡幹雄	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回生物物理学会	2007年12月21～23日	横浜

発 表 者 名	発 表 標 題	
小山知則、上久保裕生、山崎洋一、片岡幹雄	紅色光合成細菌Rhosospirillum centenum由来PYP様ドメインの光反応サイクルの特性	
学 会 等 名	発 表 年 月 日	発 表 場 所
第45回生物物理学会	2007年12月21～23日	横浜

発 表 者 名	発 表 標 題	
山口繁生、上久保裕生、栗原和男、山崎洋一、大西裕季、黒木良太、新村信雄、片岡幹雄	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回生物物理学会	2007年12月21～23日	横浜

発 表 者 名	発 表 標 題	
山崎洋一、上久保裕生、今元素、片岡幹雄	Rhodobacter capsulatus PYPの分光学的特性の解析	
学 会 等 名	発 表 年 月 日	発 表 場 所
第45回生物物理学会	2007年12月21～23日	横浜

発 表 者 名	発 表 標 題	
浴口真幸、山崎洋一、上久保裕生、片岡幹雄	Rhodobacter capsulatus由来PYPの光反応におけるpH依存性	
学 会 等 名	発 表 年 月 日	発 表 場 所
第45回生物物理学会	2007年12月21～23日	横浜

発 表 者 名	発 表 標 題	
永田大介、山崎洋一、上久保裕生、今元素、片岡幹雄	Ala/Valスキヤニングによる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回生物物理学会	2007年12月21～23日	横浜

発 表 者 名	発 表 標 題	
山崎洋一、上久保裕生、今元素、片岡幹雄	光合成細菌Rhodobacter capsulatus 由来PYPの分光学的特性	
学 会 等 名	発 表 年 月 日	発 表 場 所
第14回日本光生物学協会年会	2007年7月	生駒

〔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。

--