

平成21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21年度～平成22年度
5. 課題番号 2 1 7 7 0 1 7 4
6. 研究課題名      階層縦断的な蛋白質ネットワーク解析技術の構築

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	フリガナ 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

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
	フリガナ		
	フリガナ		
	フリガナ		
	フリガナ		
	フリガナ		

9. 研究実績の概要

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。

本申請研究では、X線溶液散乱測定法を活用することで、「構成要素である蛋白質(ドメイン)の状態変化」、及び、「蛋白質集団の性質を決定する蛋白質の離合集散過程」を構造学的に解析し、これらの事象を互いに関連づけることで、階層縦断的に蛋白質ネットワークシステムの理解を目指している。

これまで、ヒト由来のクラスリン被覆小胞輸送に関与するアダプター蛋白質(GGA)をモデル系として、研究を行ってきた。GGAは本来、3つのドメインからなるマルチドメイン蛋白質である。しかしながら、精製上の問題から、N末端に存在する2つのドメインからなるGGA断片使用せざるを得なかった。近年、DrosophilaからもGGA類似蛋白質が存在することが明らかとなり、全長での解析を進めるために、Drosophila由来の全長GGAの発現系を構築し、精製条件の検討を行った。その結果、GST融合蛋白質として発現し、GSTカラムを用いて精製後、PreScission Proteaseを用いた限定分解の結果、800mlあたり、数mgの全長GGAを精製することに成功した。

動的散乱測定を行った結果、単量体で存在していることが示唆され、今後は、全長GGA蛋白質を用いた検証実験を展開していく。

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) ドメイン配置構造
- (4) \_\_\_\_\_      (5) \_\_\_\_\_      (6) \_\_\_\_\_
- (7) \_\_\_\_\_      (8) \_\_\_\_\_

(裏面に続く)

## 11. 研究発表（平成21年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計（ 4 ）件    うち査読付論文 計（ 4 ）件

著者名	論文標題			
S. Kato, H. Kamikubo, S. Hiran o, Y. Yamazaki, and M. Kataoka	Non-local interaction responsible for the tertiary structural formation of Staphylococcal nuclease.			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Biophys. J.	有り	98	2 0 1 0	678-786

著者名	論文標題			
H. Nakagawa, H. Kamikubo and M. Kataoka	Effect of conformational states on protein dynamical transition.			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Biochim. Biophys. Acta	有り	1804	2 10 1 0	27-33

著者名	論文標題			
A. Tanaka, Y. Hasegawa, H. Ka mikubo, M. Kataoka and T. Ka wai	Self-aggregation of magnetic semiconductor EuS nanocrystals.			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Thin Solid Films	有り	518	2 10 1 0	870-872

著者名	論文標題			
Atsushi Tanaka	Self-assembling Formation and Enhanced Magnetic Properties of Three-dimensional Super-lattice Structures Composed of Cube- and Sphere-shaped EuS nanocrystals			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Chemistry of Materials	有り		2 10 1 0	印刷中

〔学会発表〕 計（ 16 ）件    うち招待講演 計（ 3 ）件

発表者名	発表標題		
上久保裕生、山口繁雄、片岡幹雄	分子内プロトン移動: Photoactive Yellow Proteinの水素結合構造から何がわかるのか		
学会等名	発表年月日	発表場所	
分子研研究会 広がるロドプシンの仲間から何がわかるのか、何をもちたらすのか	平成22年3月24日	岡崎コンファレンスセンター	

発表者名	発表標題		
上久保裕生	中性子結晶構造解析による蛋白質分子内プロトン移動機構の解明		
学会等名	発表年月日	発表場所	
茨城県中性子利用促進研究会	平成22年3月25日	リコッティ	

発表者名	発表標題		
上久保裕生	中性子結晶構造解析による蛋白質中の「低障壁」水素結合の発見		
学会等名	発表年月日	発表場所	
第9回日本中性子科学会年会	2009年12月9-11日	茨城	

発表者名	発表標題		
片岡幹雄、上久保裕生、山口繁 生	イエロープロテインの低障壁水素結合の形成とその役割		
学会等名	発表年月日	発表場所	
第36回生体分子化学討論会	2009年6月19-20日	札幌	

発表者名	発表標 題	
久保晴政	Rc-PYPと相互作用タンパク質を用いた酵素活性の光制御系の作製	
学会等名	発表年月日	発表場所
第47回日本生物物理学会年会	2009年10月30日-11月1日	徳島

発表者名	発表標 題	
山崎洋一	Rhodobacter capsulatus由来PYPの相互作用様式の解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
第47回日本生物物理学会年会	2009年10月30日-11月1日	徳島

発表者名	発表標 題	
濱口祐也	Rc-PYPの低温分光	
学会等名	発表年月日	発表場所
第47回日本生物物理学会年会	2009年10月30日-11月1日	徳島

発表者名	発表標 題	
松本啓佑	キメラを用いたPhotoactive Yellow Proteinの研究	
学会等名	発表年月日	発表場所
第47回日本生物物理学会年会	2009年10月30日-11月1日	徳島

発表者名	発表標 題	
吉岡紘志	Staphylococcal nucleaseアラニン挿入変異体の結晶学的研究	
学会等名	発表年月日	発表場所
第47回日本生物物理学会年会	2009年10月30日-11月1日	徳島

発表者名	発表標 題	
小賀坂彰浩	エレメント置換による蛋白質の機能獲得の試み	
学会等名	発表年月日	発表場所
第47回日本生物物理学会年会	2009年10月30日-11月1日	徳島

発表者名	発表標 題	
齊藤謙介	アゾベンゼンを用いた構造エレメントのモジュレーション	
学会等名	発表年月日	発表場所
第47回日本生物物理学会年会	2009年10月30日-11月1日	徳島

発表者名	発表標 題	
鬼塚正義	誘導折り畳み反応の $\Phi$ 値解析：スタフィロコッカルヌクレアーゼ変異体の誘導折り畳み反応におけるリガンド結合の役割	
学会等名	発表年月日	発表場所
第47回日本生物物理学会年会	2009年10月30日-11月1日	徳島

発表者名	発表標 題	
澤田宏起	電子常磁性共鳴分光法による天然変性Staphylococcal nuclease変異体の構造解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
第47回日本生物物理学会年会	2009年10月30日-11月1日	徳島

発表者名	発表標題	
芝るみ	網羅的アラニン挿入変異解析法を用いたジヒドロ葉酸還元酵素の機能発現および構造形成領域の抽出	
学会等名	発表年月日	発表場所
第47回日本生物物理学会年会	2009年10月30日-11月1日	徳島

発表者名	発表標題	
小川洋子	網羅的アラニン挿入変異解析によるHuman p100 SNase様ドメインの構造形成に関わる領域の抽出	
学会等名	発表年月日	発表場所
第47回日本生物物理学会年会	2009年10月30日-11月1日	徳島

発表者名	発表標題	
S. Yamaguchi, H. Kamikubo, M. Kataoka	Low barrier hydrogen bond in photoactive yellow protein and its role in photoreaction	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 1st NCTU-NAIST workshop on "Molecular/Nano Science"	2009年11月11-13日	新竹 (台湾)

〔図書〕 計 ( 2 ) 件

著者名	出版社		
M. Kataoka and H. Kamikubo	Structure of the photointermediate of photoactive yellow protein and the propagation mechanism of structural change.		
書名	発行年	総ページ数	
in "Water and Biomolecules" (eds. by K. Kuwajima, Y. Goto, F. Hirata, M. Kataoka and M. Terazima),	2010	12ページ	

著者名	出版社		
上久保裕生、山口繁生、片岡幹雄	中性子回折の基礎と応用(応用11)フォトアクティブイエロープロテインの中性子結晶構造解析		
書名	発行年	総ページ数	
日本アイソトープ協会 RADIOISOTOPES	2010	9ページ	

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。

--