

様 式 F - 7 - 1

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）実施状況報告書（研究実施状況報告書）（平成28年度）

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. 補助事業期間 平成28年度～平成30年度

5. 課題番号 

1	6	K	1	7	9	3	5
---	---	---	---	---	---	---	---

6. 研究課題名 機能部位連携を志向したタンパク質多量体の構造制御法開発

## 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 4 5 2 5 3 5	ナガオ サトシ 長尾 聡	物質創成科学研究科	助教

## 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

## 9. 研究実績の概要

生体内の様々な形状・サイズのタンパク質多量体はボトムアップ型のプロセスで作られ、協同的な基質分子結合、金属原子の貯蔵、回転・並進運動などの機能を有している。このようなユニークな機能の人工再現には、タンパク質を決まった様式で会合させるナノレベルの構造制御が必要となるが、その知識基盤は十分に確立していない。本研究では、多量体の人工構築法を発展させるため、タンパク質の部分構造が分子間で交換するドメインスワッピングにより、同一分子間または異種分子間において形成させた二量体と、それをビルディングブロックとした四量体を構築し、多量体構築原理の理解と機能部位連携する多量体構築を目指す。

平成28年度は、本研究の基盤となる二量体の形成量と安定性の向上を目指し、ミオグロビンのヒンジ領域の二次構造形成能が二量体の形成および安定性に及ぼす影響の解明に取り組んだ。具体的には、ミオグロビンのヒンジ領域のアミノ酸配列を二次構造形成能の低いものから高いものへとアミノ酸置換した変異体を作製し、その二量体の形成量と安定性をゲル過クロマトグラフィーおよび示差走査熱量測定法により調べた。ヒンジ領域にヘリックス形成能の高いアミノ酸を導入した変異体では、大腸菌に発現させたミオグロビンが精製段階において二量体を形成しており、変異型の二量体の安定性は野生型と比較して高いことが明らかとなった。また、変異型の二量体のX線結晶構造解析より、野生型の二量体と同様のドメインスワップ構造を有していることを明らかにした。以上の結果より、ヒンジ領域のアミノ酸の二次構造形成能がドメインスワップによる二量体形成に重要であることが示された。

## 10. キーワード

(1) ヘムタンパク質	(2) ミオグロビン	(3) 二量体	(4) ドメインスワッピング
(5) 安定性	(6)	(7)	(8)

## 11. 現在までの進捗状況

(区分)(2) おおむね順調に進展している。

(理由)

研究実施計画では、平成28年度はヒンジ領域の二次構造形成能が二量体の形成および安定性に及ぼす影響の解明に取り組む予定であった。予定通りに目標としたヒンジ領域の二次構造形成能と二量体の形成量および安定性の関係を明らかにすることが出来たため、おおむね順調に進展していると判断した。平成28年度に得られた結果は、タンパク質の多量体形成において新規な知見であるため、学術論文として報告する。現在、不足分のデータを収集し、論文を執筆中である。

## 12. 今後の研究の推進方策 等

(今後の推進方策)

平成28年度は予定通りに研究が進展したため、平成29年度は研究実施計画に記した通り、二量体をビルディングブロックとした四量体構築に取り組む。具体的には、平成28年度に得られたヒンジ領域に二次構造形成能の高いアミノ酸を導入した変異体をベースとして、二量体分子間のヘリックス-ヘリックス界面に疎水性相互作用が生まれるような変異導入を加え、ヘリックスバンドル型の構造形成を期待した四量体構築を行う。また、並行して、異種分子間において形成させた二量体構築も行う。

(次年度使用額が生じた理由と使用計画)

(理由)

当初、微量分光光度計を購入予定であったため予算計上していたが、研究実施場所において購入予定であった微量分光光度計と同等の性能を有する機械を利用できることになったため、購入を中止した。しかし、次年度以降の研究期間に購入する必要性が生じる可能性があるため、次年度に予算を利用することとした。

(使用計画)

現在利用している微量分光光度計が利用不可能となった場合、微量分光光度計を購入するために使用する。

(課題番号： 16K17935 )

(注) ・印刷に当たっては、A4判(縦長)・両面印刷すること。

## 13. 研究発表 (平成28年度の研究成果)

〔雑誌論文〕 計(0)件/うち査読付論文 計(0)件/うち国際共著 計(0)件/うちオープンアクセス 計(0)件

著者名		論文標題				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著	
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)						
オープンアクセス						

〔学会発表〕 計(3)件/うち招待講演 計(0)件/うち国際学会 計(0)件

発表者名		発表標題	
須田綾香、小林 紀、長尾 聡、柴田 直樹、樋口 芳樹、廣田 俊		ミオグロビンのループ領域アミノ酸変異によるドメインスワップ二量体のデザイン	
学会等名	発表年月日	発表場所	
第10回バイオ関連化学シンポジウム	2016年09月07日 ~ 2016年09月09日	もてなしドーム地下広場 (石川県金沢市)	

発表者名		発表標題	
長尾 聡、須田綾香、小林 紀、柴田 直樹、樋口 芳樹、廣田 俊		ドメインスワッピングによるミオグロビン二量体の形成	
学会等名	発表年月日	発表場所	
第54回日本生物物理学会年会	2016年11月25日 ~ 2016年11月27日	つくば国際会議場 (茨城県つくば市)	

発表者名	発表標題	
Satoshi Nagao, Ayaka Suda, Hisashi Kobayashi, Naoki Shibata, Yoshiki Higuchi, Shun Hirota	Design of Domain-swapped Myoglobin Dimer	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 97th CSJ Annual Meeting	2017年03月16日 ~ 2017年03月19日	慶應義塾大学日吉キャンパス(神奈川県横浜市)

〔図書〕 計(0)件

著者名	出版社		
書名	発行年	総ページ数	

## 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 : -

17. 備考

--