

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

14603

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18年度～平成19年度

5. 課題番号

18031038

6. 研究課題名 光解離性修飾基を利用したタンパク質のフォールディング反応の追跡

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
90283457	リカナ ヒロタ, シュン 廣田 俊	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
	リカナ		
	リカナ		
	リカナ		
	リカナ		
	リカナ		

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。

タンパク質のフォールディング反応に関して、ストップドフロー法を用いた研究により比較的遅い時間帯での情報は多く得られている。しかし、ストップドフロー法の不感時間内である1ミリ秒よりも早い時間領域での知見は依然少なく、このフォールディング反応の初期過程を観測できる新しい研究手法が待ち望まれていた。本研究では、光でタンパク質のフォールディング反応を開始させる新規な手法を提案している。本年度は光解離性修飾基を用いる手法を進展させ、タンパク質の立体構造変化を可逆的に繰り返せるようにするため、以下の成果を得た。

1. 架橋修飾試薬として、4,4'-ジヒドロキシルメチルアゾベンゼンと四臭化炭素から可逆的に構造変化する 4,4'-ジブromoメチルアゾベンゼンを合成した。

2. 合成した架橋修飾試薬をミオグロビンに導入するため、分子工学的手法によりミオグロビンの表面上で約 8 Å離れた位置にシステイン残基を2つ導入した。2つのシステイン残基間距離約 8 Åは、ミオグロビンをアゾベンゼン誘導体で架橋した場合、アゾベンゼン修飾基がシス構造を取るときに修飾タンパク質の立体構造が天然タンパク質とほぼ同じ立体構造をとるように選んだ。これに対して、アゾベンゼン修飾基がトランス構造を取るときには、修飾タンパク質のヘムポケット空間が大きくなり、タンパク質の立体構造が変化することが期待できる。

3. 2箇所システイン残基を挿入したミオグロビンを大腸菌の高発現系を用いて精製し、得られたミオグロビンからヘムを除き、アポ型ミオグロビンを得た。合成した架橋修飾試薬は 355 nm のレーザー光を照射してシス体に変換した。次に、得られたシステイン導入アポミオグロビンとシス型架橋修飾試薬を反応させ、アゾベンゼン架橋アポミオグロビンを得た。修飾アポミオグロビンはカラムで精製し、吸収スペクトルよりアゾベンゼン誘導体による修飾を確認した。

※ 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書(A4 判縦長横書 1 枚)を添付すること。

10. キーワード

(1) タンパク質

(2) 光解離性修飾基

(3) タンパク質修飾

(4) 化学修飾

(5) フォールディング

(6) 光反応

(7) 構造変化

(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（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
			■ ■ ■	

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
			■ ■ ■	

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
			■ ■ ■	

〔学会発表〕 計（1）件

発表者名	発表標題	
長尾聡、廣田俊	コンフォメーション制御を指向したミオグロビンの光応答性分子修飾	
学会等名	発表年月日	発表場所
日本化学会第88春季年会	2008年3月29日	立教大学池袋キャンパス

〔図書〕 計（0）件

著者名	出版社		
書名			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。