

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 新学術領域研究 4. 研究期間 平成20年度～平成24年度
5. 課題番号 2 0 1 0 7 0 0 6
6. 研究課題名 天然変性蛋白質のモデル系開発と揺らぎと構造形成関連の解析
7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
3 0 1 5 0 2 5 4	カタオカ ミキオ 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
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。

黄色ブドウ球菌核酸分解酵素（SNase）を用いて、生理的条件下で天然構造をとらないが、基質結合により天然構造にまき戻る天然変性蛋白質のモデル系を数種作製した。これまでに、基質結合による誘導折りたたみの速度論的測定から、基質結合が折りたたみに先立って起きる（Binding before folding）機構と折りたたまれたのちに基質結合が起きる（Folding before binding）機構の両者が実現しうることを示されている。前者のより具体的な証明は、非天然構造－基質複合体の存在を示すことである。前者の機構に従う変異体について、φ値解析を適用した結果、基質結合部位を構成するK84、Y85、Y113、Y115およびその近傍のT82、R105、V114は、複合体で天然構造様トポロジーをとっているが、αヘリックス1に位置するV51やヘリックス3に位置するK127、Q131は構造をとっていないことが示された。これは、前者の誘導折りたたみ機構を証明するものである。また、この機構が実現する変異体はW140を核とするドメイン形成を阻害する変異体である。W140を核とするドメイン形成は、天然構造に折りたたむために必須な相互作用であるC末ドメインとN末ドメイン間の疎水相互作用を生み出す。W140を核とするドメイン形成ができない変異体に対しY54C/I139Cの二重システイン置換体を作製し、人工的にSS架橋させた。人工的に導入したSS結合は、失われたC末－N末間の相互作用を代用し、天然構造への折りたたみを促進した。また、速度論的測定から、その折りたたみ機構は野生型と同じであることを示した。

10. キーワード

- | | | |
|---------------|--------------|---------------|
| (1) 天然変性タンパク質 | (2) 誘導折り畳み | (3) ストップフローCD |
| (4) 核酸分解酵素 | (5) 中性子非弾性散乱 | (6) 水和水 |
| (7) 標的結合 | (8) タンパク質動力学 | |

（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（ 5 ）件 うち査読付論文 計（ 5 ）件

著者名	論文標題			
Pascale Changeret-Barret	Structural effects on the ultrafast photoisomerization of photoactive yellow protein : Transient absorption spectroscopy of two point mutants			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
<i>J. Phys. Chem. C.</i>	有	113	2009	11605-11613

著者名	論文標題			
Atsushi Tanaka	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
<i>Thin Solid Films</i>	有	518	2009	870-872

著者名	論文標題			
H. Nakagawa	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
<i>Biochim. Biophys. Acta</i>	有	1804	2010	27-33

著者名	論文標題			
Shingo Kato	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
<i>Biophys. J</i>	有	98	2010	678-686

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
<i>Chemistry of Materials</i>	有		2010	印刷中

〔学会発表〕 計（ 20 ）件 うち招待講演 計（ 7 ）件

発表者名	発表標題		
片岡幹雄	タンパク質動力学に対する水和の効果		
学会等名	発表年月日	発表場所	
第9回日本蛋白質科学会年会	2009年5月20-22日	熊本	

発表者名	発表標題		
片岡幹雄	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		
Mikio 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	
Telluride Science Research Center (TSRC) Workshop on Protein Dynamics 2009	2009年8月3-7日	テルライド（アメリカ）	

発表者名	発表標 題	
Mikio Kataoka	Effect of Hydration Water on Protein Dynamics	
学会等名	発表年月日	発表場 所
The 3rd UT Horiba International Symposium on Hydrogen and water in condensed matter physics	2009年10月12-16日	千葉

発表者名	発表標 題	
山口繁生	Photoactive Yellow Proteinの低障壁水素結合	
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	
片岡幹雄	中性子非弾性散乱で蛋白質の熱揺らぎを測る	
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	
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 Φ 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	
中川洋	蛋白質の調和運動と非調和運動に対する水和効果	
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	
Mikio 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)

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回日本中性子科学学会年会	2009年12月9-11日	茨城

〔図 書〕 計 (1) 件

著 者 名	出 版 社		
Mikio Kataoka	John Wiley		
書 名	発 行 年	総ページ数	
Protein dynamics studied by neutron incoherent scattering	2 0 1 0	in press	

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 w e b ページがある場合は、URLを記載すること。

--