

平成22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	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

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、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研究を行ってきた。

申請者は、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に注目し研究を行ってきた。GGAは3つのドメインからなるマルチドメイン蛋白質であり、ドメインごとに固有の機能を有しており、ドメイン間の連動性を明らかにすることは、クラスリン被覆小胞輸送を理解する上で本質的である。先の研究では、ヒト由来GGAを用い研究を行ってきたが、全長蛋白質が不安定であるために、N末端に存在する2つのドメインのみを含む断片を使わざるを得なかった。しかし、切断部位には、N末端ドメインの機能制御に関与する配列が存在することが知られており、全長での研究を行う必要があった。昨年度は、Drosophila由来のGGA (DroGGA) の発現・精製を試み、その結果、全長DroGGAを安定に調製することに成功した。本年度は、全長DroGGAを用い、N末端ドメインへの結合因子添加に伴う溶液構造変化、並びに、リンカー領域がN末端ドメインに及ぼす影響について、X線溶液散乱測定、並びに、動的散乱測定によって解析した。この結果、以下の知見が得られた。・DroGGAの3つのドメインは、相互作用蛋白質存在下で、互いに接触し、全体としてコンパクトな構造をとっている。・N末端ドメインに対する相互作用蛋白質存在下では、その結合により、3つのドメインが離散した構造をとる。・DroGGA内部に存在する、N末端ドメイン結合領域は、他のDroGGAのN末端ドメインと分子間で相互作用を形成し、その結果、DroGGA多量体を形成する。・分子会合は、N末端ドメイン相互作用蛋白質存在下で可逆的に融解する。以上の結果から、GGAが関与する、あらたな蛋白質の離合集散制御機構が明らかとなり、GGAによるクラスリン被覆小胞形成機構の一端を解明することができた。

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22年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計（ 7 ）件 うち査読付論文 計（ 7 ）件

著者名	論文標題			
Hiroshi 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
Biochim. Biophys. Acta	有	1804	2 0 1 0	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
Biophys. J.	有	98	2 0 1 0	678-786

著者名	論文標題			
Atsushi Tanaka	Self-Assembly and Enhanced Magnetic Properties of Three-dimensional Superlattice 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
Chem. Mat.	有	22	2 0 1 0	1776-1781

著者名	論文標題			
Shun Hirota	Cytochrome c polymerization by successive domain swapping at the C-terminal helix			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Proc. Natl. Acad. Sci. USA	有	107	2 0 1 0	12854-12859

著者名	論文標題			
Atsushi Tanaka	Size-controlled aggregation of cube-shaped EuS nanocrystals with magneto-optic properties in solution			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
Langmuir	有	27	2 0 1 0	104-108

著者名	論文標題			
Rumi Shiba	Systematic alanine insertion reveals the essential regions that encode structure formation and activity of dihydrofolate reductase			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
BIOPHYSICS	有	7	2 0 1 1	1-10

著者名	論文標題			
上久保裕生	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			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
RADIOISOTOPES	有	59	2 0 1 0	289-297

〔学会発表〕計（ 24 ）件 うち招待講演 計（ 0 ）件

発表者名	発表標題	
Hiroki Sawada et al.	The effect of alanine insertion mutation for folding process.	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 4th Shanghai International Conference on Biophysics and Molecular Biology	2010年8月9日	Shanghai-Jiashan, China

発表者名	発表標題	
Rumi Shiba et al.	Extraction of the regions encoded foldability and/or functionability from dihydrofolate reductase by the systematic alanine insertion	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 4th Shanghai International Conference on Biophysics and Molecular Biology	2010年8月9日	Shanghai-Jiashan, China

発表者名	発表標題	
Hironari Kamikubo et al.	Fluctuation controls enzymatic activity of Staphylococcal nuclease	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 4th International Symposium “Molecular Science of Fluctuations toward Biological Functions”	2010年12月1日	大津

発表者名	発表標題	
Hiroki Sawada et al.	The investigation of the relationship between non-local interaction and the effect of single alanine insertion in staphylococcal nuclease	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 4th International Symposium “Molecular Science of Fluctuations toward Biological Functions”	2010年11月30日	大津

発表者名	発表標題	
Rumi Shiba et al.	Classification of the functional element of dihydrofolate reductase by the systematic alanine insertion	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 4th International Symposium “Molecular Science of Fluctuations toward Biological Functions”	2010年12月1日	大津

発表者名	発表標題	
Yusuke Kishi et al.	FRET analysis of structural changes in staphylococcal nuclease	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 4th International Symposium “Molecular Science of Fluctuations toward Biological Functions”	2010年12月1日	大津

発表者名	発表標題	
Mariko Yamaguchi et al.	Measurements of loop formation in the denatured state of staphylococcal nuclease	
学会等名	発表年月日	発表場所
The 4th International Symposium “Molecular Science of Fluctuations toward Biological Functions”	2010年11月30日	大津

発表者名	発表標 題	
Zhonghua Wang et al.	Cytochrome c polymerization by successive domain swapping at the C-terminal helix	
学 会 等 名	発表年月日	発表場 所
The 4th International Symposium "Molecular Science of Fluctuations toward Biological Functions"	2010年12月1日	大津

発表者名	発表標 題	
萩原義久 et al.	精子由来蛋白質IZUMO, その構造と受精膜融合での役割	
学 会 等 名	発表年月日	発表場 所
第10回日本蛋白質科学会年会	2010年6月18日	札幌

発表者名	発表標 題	
芝るみ et al.	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及び構造形成領域の抽出	
学 会 等 名	発表年月日	発表場 所
第10回日本蛋白質科学会年会	2010年6月16日	札幌

発表者名	発表標 題	
山崎洋一 et al.	Photoactive Yellow Proteinにおける発色団の機能変調	
学 会 等 名	発表年月日	発表場 所
第16回日本光生物学協会年会	2010年8月11日	吹田

発表者名	発表標 題	
Shun Hirota et al.	Cytochrome c polymerization by successive domain swapping at the C-terminal helix	
学 会 等 名	発表年月日	発表場 所
第48回日本生物物理学会年会	2010年9月22日	仙台

発表者名	発表標 題	
Daizo Hamada et al.	A case of EspB from enterohaemorrhagic Escherichia coli	
学 会 等 名	発表年月日	発表場 所
第48回日本生物物理学会年会	2010年9月22日	仙台

発表者名	発表標 題	
Yoko Ogawa et al.	Property of a structural element of SNase-like domain in human p100	
学 会 等 名	発表年月日	発表場 所
第48回日本生物物理学会年会	2010年9月22日	仙台

発表者名	発表標 題	
Hiroki Sawada et al.	The investigation of the relationship between non-local interaction and the effect of single alanine insertion in staphylococcal nuclease	
学 会 等 名	発表年月日	発表場 所
第48回日本生物物理学会年会	2010年9月22日	仙台

発表者名	発表標題	
Junko Miura et al.	Solution structure of the light sensor histidine kinase of Ppr comprised of the PYP and Bph domains	
学会等名	発表年月日	発表場所
第48回日本生物物理学会年会	2010年9月21日	仙台

発表者名	発表標題	
Maiko Naruse et al.	Solution structural analysis of Drosophila GGA	
学会等名	発表年月日	発表場所
第48回日本生物物理学会年会	2010年9月21日	仙台

発表者名	発表標題	
Miki Hayashi et al.	Analysis of solution state of the interaction protein of Rc-PYP	
学会等名	発表年月日	発表場所
第48回日本生物物理学会年会	2010年9月21日	仙台

発表者名	発表標題	
Yusuke Kishi et al.	FRET analysis of structural changes in Staphylococcal nuclease	
学会等名	発表年月日	発表場所
第48回日本生物物理学会年会	2010年9月22日	仙台

発表者名	発表標題	
Changjun Ahn et al.	The role of each residue in the flexible Ω loop of Staphylococcal nuclease on the catalytic activity	
学会等名	発表年月日	発表場所
第48回日本生物物理学会年会	2010年9月21日	仙台

発表者名	発表標題	
Mariko Yamaguchi et al.	Urea denaturation of staphylococcal nuclease monitored by tryptophan-cysteine distance	
学会等名	発表年月日	発表場所
第48回日本生物物理学会年会	2010年9月20日	仙台

発表者名	発表標題	
Rumi Shiba et al.	Classification of the functional element of dihydrofolate reductase (DHFR) by the systemic alanine insertion	
学会等名	発表年月日	発表場所
第48回日本生物物理学会年会	2010年9月21日	仙台

発表者名	発表標題	
Hironari Kamikubo et al.	Synthesis of an artificial enzyme by implanting the functional elements of SNase	
学会等名	発表年月日	発表場所
第48回日本生物物理学会年会	2010年9月21日	仙台

発表者名	発表標題	
Yoichi Yamazaki et al.	Substitution effects of basic residues in the photoactive yellow protein of <i>Rhodobacter capsulatus</i>	
学会等名	発表年月日	発表場所
第48回日本生物物理学会年会	2010年9月20日	仙台

【図書】 計 (1) 件

著者名	出版社	
上久保 裕生	共立出版	
書名	発行年	総ページ数
「入門 構造生物学」編集：加藤龍一 2章3節X線溶液散乱	2 0 1 0	8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。

--