

平成23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 特定領域研究 4. 研究期間 平成22年度～平成23年度
5. 課題番号

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 2 | 2 | 0 | 1 | 8 | 0 | 1 | 9 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
6. 研究課題名 蛋白質中に存在する低障壁水素結合の特性解析

7. 研究代表者

| 研究者番号 | 研究代表者名 | 所属部局名 | 職名 |
|----------|-------------|------------|------------------|
| 20311128 | カミクボ 上久保 | ヒロナリ 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。

本研究では、低障壁水素結合（LBHB）の存在が実証された光センサー蛋白質（Photoactive Yellow Protein, PYP）をモデル蛋白質として、蛋白質中での LBHB の物理化学的特性を明らかにすることを目的とし実施してきた。本年度は、(1)LBHB の結合エネルギーの評価を行い、(2)LBHB の形成条件について検証した。

(1) LBHB を通常の水素結合に変換した変異体（E46Q）を作製し、X 線並びに中性子併用結晶構造解析によって変異効果を検証した。変異に伴い、LBHB に近接する短距離水素結合（pCA-Y42）の水素結合長が、2.52Å から 2.48Å まで短くなっているものの、pCA-Y42 間の水素原子は Y42 と共有結合しており、イオン性水素結合が保持されていることが確認できた。これらの水素結合の変化を除き、他の領域では、顕著な構造変化を示さなかったことを踏まえ、野生型（LBHB）、E46Q（HB）及び E46A（水素結合なし）に対して酸滴定を行い、LBHB の結合自由エネルギー（6.9 kcal/mol）は、HB（4.4 kcal/mol）の約 1.5 倍程度であることを明らかにした。(2) (1) の結果から、短距離イオン性水素結合（pCA-Y42）が、低障壁水素結合形成に作用していることが示唆された。検証のため pCA-Y42 間の水素結合を解消した変異体（Y42F）の構造解析を行ったところ、置換に伴い、pCA-Y/F42 の C_β 原子間距離が 3.24Å から 3.29Å に増加すると同時に、pCA-E46 間の水素結合長は 2.56Å から 2.63Å まで増加することがわかった。この結果は、置換に伴い、pCA-E46 間の低障壁水素結合が通常の水素結合に転換したことを示している。以上の結果から、pCA-E46 間の低障壁水素結合が形成に際する、pCA-Y42 間のイオン性水素結合による幾何学的制限の重要性を示している。

10. キーワード

- (1) 中性子結晶構造解析 (2) 水素結合 (3) 低障壁水素結合 (4) 光センサー蛋白質
 (5) (6) (7) (8)

11. 現在までの達成度

下欄には、交付申請書に記載した「研究の目的」の達成度について、以下の区分により自己点検による評価を行い、その理由を簡潔に記述すること。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。
 <区分>①当初の計画以上に進展している。 ②おおむね順調に進展している。 ③やや遅れている。 ④遅れている。

| |
|------|
| (区分) |
| (理由) |

12. 今後の研究の推進方策

本研究課題の今後の推進方策について簡潔に記述すること。研究計画の変更あるいは研究を遂行する上での問題点があれば、その対応策なども記述すること。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。

| |
|--|
| |
|--|

13. 研究発表（平成23年度の研究成果）

※ 「13. 研究発表」欄及び「14. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況」欄において記入欄が不足する場合には、適宜記入欄を挿入し、それによりページ数が増加した場合は、左端を糊付けすること。

【雑誌論文】 計 (2) 件 うち査読付論文 計 (2) 件

| 著者名 | 論文標題 | | | | |
|---|---|-----|-----|---|---------|
| N. A. Oktaviani, T. J. Pool, H. Kamikubo, J. Slager, R. M. Sceek, M. Kataoka, F. A. A. Mulder | Comprehensive determination of protein tyrosine pKa values for photoactive yellow protein using indirect ¹³ C NMR spectroscopy | | | | |
| 雑誌名 | 査読の有無 | 巻 | 発行年 | | 最初と最後の頁 |
| Biophys. J. | 有り | 102 | 2 | 0 | 1 |
| 掲載論文の DOI (デジタルオブジェクト識別子) | | | | | |
| なし | | | | | |

| 著者名 | 論文標題 | | | | |
|---|--|-----|-----|---|---------|
| M. Mizuno, H. Kamikubo, M. Kataoka, Y. Mizutani | Changes in the hydrogen-bond network around the chromophore of photoactive yellow protein in the ground and excited states | | | | |
| 雑誌名 | 査読の有無 | 巻 | 発行年 | | 最初と最後の頁 |
| J. Phys. Chem. B | 有り | 115 | 2 | 0 | 1 |
| 掲載論文の DOI (デジタルオブジェクト識別子) | | | | | |
| なし | | | | | |

【学会発表】 計 (24) 件 うち招待講演 計 (6) 件

| 発表者名 | 発表標題 | |
|--|--|--------|
| Y. Nishiguchi, H. Kamikubo, S. Yamaguchi, Y. Yamazaki, M. Yamaguchi, M. Kataoka | Geometric Restriction Facilitates LBHB Formation in Photoactive Yellow Protein | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| The 5th International Symposium on Molecular Science of Fluctuations toward Biological Functions | 2012年1月8日 | 奈良県奈良市 |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|--|--|--------|
| R. Odani, Y. Yamazaki, K. Matsumoto, M. Yamaguchi, H. Kamikubo, M. Kataoka | The Role of N-terminal Region for Photoreaction of Various Photoactive Yellow Proteins | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| The 5th International Symposium on Molecular Science of Fluctuations toward Biological Functions | 2012年1月8日 | 奈良県奈良市 |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|--|---|--------|
| H. Kamikubo, S. Yamaguchi, Y. Nishiguchi, K. Yonezawa, Y. Yamazaki, M. Yamaguchi, 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 5th International Symposium on Molecular Science of Fluctuations toward Biological Functions | 2012年1月8日 | 奈良県奈良市 |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|---|---|---------|
| H. Kamikubo, M. Kataoka | Physicochemical properties of low barrier hydrogen bonds involved in Photoactive Yellow Protein(招待講演) | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 1st Asia-Oceania Conference on Neutron Scattering | 2011年11月24日 | 茨城県つくば市 |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|--------------------------------------|-----------------------------|--------|
| 上久保裕生 | 蛋白質中に存在する低障壁水素結合の特性解析(招待講演) | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 特定領域研究「分子高次系機能解明のための分子科学」第4回公開シンポジウム | 2011年11月25日 | 宮城県仙台市 |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|---|---|----------------|
| H. Kamikubo, S. Yamaguchi, Y. Nishiguchi, K. Yonezawa, K. Kurihara, T. Tamada, M. Kataoka | The roles of the low barrier hydrogen bond involved in Photoactive Yellow Protein | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 17th International Biophysics Congress (IUPAB) | 2011年11月2日 | Beijing, China |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|--|---|----------------|
| S. Ueyanagi, H. Kamikubo, Y. Ogawa, C. Komeda, Y. Yamazaki, M. Yamaguchi, M. Kataoka | Comparison of structural elements between Staphylococcal nuclease and the C-terminal domain of Human p100 | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 17th International Biophysics Congress (IUPAB) | 2011年11月2日 | Beijing, China |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|--|---|----------------|
| M. Yamaguchi, Y. Yamazaki, H. Kamikubo, M. Kataoka | Local structural change of staphylococcal nuclease wild type and its non-native mutant with guanidine hydrochloride monitored by tryptophan triplet quenching | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 17th International Biophysics Congress (IUPAB) | 2011年11月2日 | Beijing, China |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|--|---|----------------|
| R. Shiba, H. Kamikubo, M. Umeyama, S. Tsukasa, Y. Yamazaki, M. Yamaguchi, M. Iwakura, M. Kataoka | Refinement of function element of dihydrofolate reductase by the systematic alanine insertion | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 17th International Biophysics Congress (IUPAB) | 2011年11月2日 | Beijing, China |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|--|--|----------------|
| H. Kamikubo | Phisicochemical properties of low barrier hydrogen bonds involved inproteins(招待講演) | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 2011 GIST-NAIST-NCTU Joint Symposium on Advanced Materials | 2011年10月31日 | Gwangju, Korea |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|---------------------------------------|------------------------------|--------|
| 上久保裕生 | 活性部位近傍に存在する水素結合と高次構造転移(招待講演) | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 特定領域研究「高次系分子科学」第12回ミニ公開シンポジウム「光受容蛋白質」 | 2011年10月27日 | 愛知県蒲郡市 |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|---|---|--------|
| E. Sakai, H. Kamikubo, A. Kogasaka, Y. Yamazaki, M. Yamaguchi, M. Kataoka | Attempt of functional modification of a protein by element implantation | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 第49回日本生物物理学会年会 | 2011年9月18日 | 兵庫県姫路市 |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|---|--|--------|
| T. Muto, Y. Kishi, M. Yamaguchi, K. Shiraga, I. Iijima, Y. Yamazaki, H. Kamikubo, T. Hosaka, M. Kataoka | Structural Analysis of Intrinsically Disordered Protein Model using FRET | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 第49回日本生物物理学会年会 | 2011年9月18日 | 兵庫県姫路市 |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|---|--|--------|
| S. Setoguchi, H. Kubo, Y. Yamazaki, H. Kamikubo, M. Yamaguchi, M. Kataoka | Development of Light dependent protein activity control system by use of interaction of the Rc-PYP | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 第49回日本生物物理学会年会 | 2011年9月18日 | 兵庫県姫路市 |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|--|--|--------|
| R. Odani, Y. Yamazaki, K. Matsumoto, H. Kamikubo, M. Yamaguchi, M. Kataoka | The Role of N-terminal Region for Photoreaction of Various Photoactive Yellow Proteins | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 第49回日本生物物理学会年会 | 2011年9月18日 | 兵庫県姫路市 |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|---|--|--------|
| Y. Nishiguchi, H. Kamikubo, S. Yamaguchi, T. Tamada, K. Kurihara, Y. Yamazaki, M. Yamaguchi, M. Kataoka | Analysis of low barrier hydrogen bond in Photoactive Yellow Protein, Geometric restriction facilitates LBHB formation in PYP | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 第49回日本生物物理学会年会 | 2011年9月18日 | 兵庫県姫路市 |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|--|---|--------|
| Y. Yamazaki, M. Hayashi, H. Kamikubo, M. Yamaguchi, M. Kataoka | Solution structure of the complex states of Rhodobacter capsulatus PYP with its binding protein | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 第49回日本生物物理学会年会 | 2011年9月18日 | 兵庫県姫路市 |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|--|--|--------|
| S. Nagao, Y. Hattori, M. Ueda, M. Taketa, H. Osuka, H. Komori, H. Kamikubo, S. Negi, Y. Sugiura, M. Kataoka, Y. Higuchi, S. Hirota | Cytochrome c polymerization by domain swapping | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 第49回日本生物物理学会年会 | 2011年9月17日 | 兵庫県姫路市 |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|--|---|--------|
| T. Okada, M. Yamaguchi, Y. Yamazaki, H. Kamikubo, M. Kataoka | Denatured Structure of Staphylococcal Nuclease Studied by Triplet State Quenching of Tryptophan by Cysteine | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 第49回日本生物物理学会年会 | 2011年9月17日 | 兵庫県姫路市 |

| 発表者名 | 発表標題 | |
|--|---|--------|
| S. Ueyanagi, H. Kamikubo, Y. Ogawa, C. Komeda, Y. Yamazaki, M. Yamaguchi, M. Kataoka | Comparison of structural elements between Staphylococcal nuclease and the C-terminal domain of Human p100 | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 |
| 第49回日本生物物理学会年会 | 2011年9月16日 | 兵庫県姫路市 |

| | | | |
|---|---|--------|--|
| 発表者名 | 発表標題 | | |
| R. Shiba, H. Kamikubo, M. Umeyama, S. Tsukasa, Y. Yamazaki, M. Yamaguchi, Ma. Iwakura, M. Kataoka | Classification of function element of dihydrofolate reductase by the systematic alanine insertion | | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 | |
| 第49回日本生物物理学会年会 | 2011年9月16日 | 兵庫県姫路市 | |

| | | | |
|--|---|--------|--|
| 発表者名 | 発表標題 | | |
| M. Yamaguchi, Y. Yamazaki, H. Kamikubo, M. Kataoka | Difference in local structure between staphylococcal nuclease wild type and its non-native mutant studied by tryptophan triplet quenching | | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 | |
| 第49回日本生物物理学会年会 | 2011年9月16日 | 兵庫県姫路市 | |

| | | | |
|--|-----------------------------|---------|--|
| 発表者名 | 発表標題 | | |
| 上久保裕生 | 構造生物学における放射光 X 線溶液散乱 (招待講演) | | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 | |
| 合同 PF 研究会「PF におけるマイクロビームを利用した XAFS, XRF, SAXS 実験の展望」 | 2011年9月7日 | 茨城県つくば市 | |

| | | | |
|--|---|--------|--|
| 発表者名 | 発表標題 | | |
| H. Kamikubo | Physicochemical properties of low barrier hydrogen bonds (招待講演) | | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 | |
| 特定領域研究「分子高次系機能解明のための分子科学」第5回国際公開シンポジウム | 2011年7月13日 | 北海道札幌市 | |

〔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. 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。

| |
|--|
| |
|--|