

平成23年度科学研究費助成事業（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22年度～平成23年度
5. 課題番号 

2	2	7	5	0	1	5	6
---	---	---	---	---	---	---	---
6. 研究課題名 インターエレメント化学の要素を取り入れた金属タンパク質デザイン
7. 研究代表者

研究者番号								研究代表者名		所属部局名		職名
5	0	4	3	2	5	2	1	まつお 松尾	たかし 貴史	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。

本年度は、「インターエレメント」（元素間の相互作用）とタンパク質の構造的特徴に基づく機能発現を目指した金属タンパク質デザインを行うために、2つの研究テーマを進行させた。

$\pi$ 系配位子を有する白金錯体は、2分子が近づいた際、Pt-Pt間の相互作用により発光スペクトルが変化する。また、アデニル酸キナーゼは、基質を結合する際に大きな構造変化を示し、Val169とAla55間距離が18オングストロームも変化する。そこで、これらの2つの残基をシステインに変換させたアデニル酸キナーゼ変異体を作成し、ターピリジンとN-(4-エチルフェニル)-2-ヨードアセトアミドが配位した白金錯体をタンパク質表面にコンジュゲートした。変異体タンパク質はアミノ酸を変換させても、本来の酵素活性(ATP-ADP間のリン酸基転移)を保持していた。また、白金錯体のコンジュゲートにおいては、バッファーおよび添加する助溶媒を検討した結果、2%のアセトニトリルを含むリン酸緩衝液中が最も効率よく白金錯体を導入できることが分かった。調製したタンパク質発光スペクトルにおいて、阻害剤であるAp5Aを添加したところ、スペクトルのシフトが観測された。このことは、阻害剤の結合に伴い、2分子の白金錯体が互いに接近したことを示しており、分子設計の妥当性が示された。

次にサブチリシン活性部位のセリン残基を選択的にシステインに変換させた「チオールサブチリシン」を調製し、サブチリシン活性部位において、システイン配位Cu<sup>2+</sup>錯体の構築を行った。EPRにより、配位構造がType-2であることが分かり、また、吸収スペクトルおよびEPRにより、自動還元が起こることが分かった。このことは、チオールサブチリシン内で、酸素分子の活性化および触媒反応への応用の可能性を示しており、元素間相互作用に基づく、タンパク質機能の変換という観点で興味もたれる実験データが得られた。

10. キーワード

- |               |               |          |          |
|---------------|---------------|----------|----------|
| (1) インターエレメント | (2) タンパク質デザイン | (3) 白金錯体 | (4) 触媒反応 |
| (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（ 3 ）件      うち査読付論文 計（ 0 ）件

著者名	論文標題						
Takashi Matsuo, Kazuki Fukumoto, Takuro Watanabe, Takashi Hayashi	Precise Design of Artificial Cofactors for Enhancing Peroxidase Activity of Myoglobin: Myoglobin Mutant H64D Reconstituted with a Single-winged Cofactor is Equivalent to Native Horseradish Peroxidase in Oxidation Activity						
雑誌名	査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁		
Chem. Asian. J.	有	6	2	0	1	1	2491-2499
掲載論文の DOI (デジタルオブジェクト識別子)							
10.1002/asia.201100107							

著者名	論文標題						
Zhonghua, Wang, Takashi Matsuo Satoshi Nagao, Shun Hirota	Peroxidase Activity Enhancement of Horse Cytochrome c by Dimerization						
雑誌名	査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁		
Org. Biomol. Chem.	有	9	2	0	1	1	4766-4769
掲載論文の DOI (デジタルオブジェクト識別子)							
10.1039/C1OB05552F							

著者名	論文標題						
Anangamohan Panja, Takashi Matsuo Satoshi Nagao, Shun Hirota	DNA Cleavage by Photo-Controlled Cooperation of Zn(II) Centers in Azobenzene-Linked Zinc Complex						
雑誌名	査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁		
Inorg. Chem.	有	50	2	0	1	1	11437-11445
掲載論文の DOI (デジタルオブジェクト識別子)							
10.1021/ic201244y							

【学会発表】計（ 4 ）件      うち招待講演 計（ 0 ）件

発表者名	発表標題		
藤井亮、松尾貴史、廣田俊	タンパク質構造変化を利用したスイッチング機能を有する機能性生体分子の創成		
学会等名	発表年月日	発表場所	
第5回バイオ関連化学シオンポジウム	2011年9月13日	つくば国際会議場「エポカルつくば」、つくば	

発表者名	発表標題		
吉田武史、松尾貴史、廣田俊	水溶性グラブスホペイダ錯体の構造および触媒活性に対するpH・塩濃度効果		
学会等名	発表年月日	発表場所	
第61回錯体化学討論会	2011年9月18日	岡山理科大学、岡山	

発表者名	発表標題		
藤井亮、松尾貴史、廣田俊	アデニル酸キナーゼの構造変化に基づく機能スイッチングシステム		
学会等名	発表年月日	発表場所	
日本化学会第92春季年会	2012年3月27日	慶應義塾大学、横浜	

発表者名	発表標題		
権田勝也、松尾貴史、廣田俊	サブチリシン活性部位の化学修飾に基づくシステイン配位銅錯体の構築		
学会等名	発表年月日	発表場所	
日本化学会第92春季年会	2012年3月27日	慶應義塾大学、横浜	

【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。

<a href="http://mswebs.naist.jp/LABs/hirota/tmatsuo/matsuo_jpn.html">http://mswebs.naist.jp/LABs/hirota/tmatsuo/matsuo_jpn.html</a>
---