平成 2 3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	基盤研究(B)	4. 補助事業期	間 平成23年度~平成25年度
5.	課題番号	2 3 3 7 0 0 7 4		
6.	研究課題	蛋白質の構造機能要素の抽出と応用の為の	D基盤整備	

7. 研究代表者

研 究 者 番 号	研究代表者名	所属部局名	職名
	カミクボ ヒロナリ	物質創成科学研究科	准教授
2 0 3 1 1 1 2 8	上久保 裕生		

8. 研究分担者

	矽	F 3	究	者	番	号		研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職 名
								カタオカ ミキオ	物質創成科学研究科	教授
3	0	1	5	0	2	5	4	片岡 幹雄		
								ヤマザキ ヨウイチ	物質創成科学研究科	助教
4	0	3	3	2	7	7	0	山崎洋一		

9. 研究実績の概要

我々は、蛋白質一般に、アミノ酸配列の分断によって、構造・機能に著しい影響が生じる領域が存在することを示してきた。本研究では、これらの領域が、構造や機能の基本要素(エレメント)になっているとの仮説を実証するために、類似構造を有する「異種」蛋白質問での、エレメントの位置保存性を確認し、さらに、蛋白質問でのエレメントの交換可能性について検証した。構造エレメントが、構造形成において基本要素であるとすれば、仮に、配列一致度が低かったとしても、類似構造を示す蛋白質問で、構造上、相同な位置に構造エレメントが存在することが期待される。そこで、互いに類似した構造を有するものの異なる機能を示す2つの蛋白質、核酸分解酵素Staphylococcal nuclease(SNase)及び転写調節因子ヒト由来p100蛋白質SNDドメインの構造エレメントを比較した。Snaseについては、すでに全領域に対して網羅的アラニン挿入変異解析を行い、構造エレメントの同定に成功している。そこで、ここではSNDの 2へリックスに対して新たにアラニン挿入変異解析を行った。SNDのアラニン挿入変異解析の結果、ヘリックスのC未端領域に構造エレメントが存在することが明らかになった。Snaseの結果と比較すると、立体構造上、両者の構造エレメントは立体構造上、相同な場所に位置していた。この結果は、構造エレメントの位置保存性を示唆するものだといえる。機能エレメントの移植によって蛋白質が持つ機能の改変が可能かどうかを検証するために、ここでも同様にSnaseとSNDを用い、Snaseから抽出した機能エレメントのSNDへの移植を試みた。本年度は、機能エレメントをSNDに移植したコンストラクトの作製まで実施した。

(1) 蛋白質工学	(2) 分子設計	$_{(3)}$ フォールディング	(4) 酵素
(5)	(6)	(7)	(8)
1. 現在までの達成度 (区分)(2)おおむね順 (理由) SNDの網羅的アラニン挿入: 。そこで、新たに赤外吸収 メント移植に関しては、機	変異解析の過程で、円偏光二色性	:分光測定による解析の結果から、より ことによって、SNDの構造エレメントを のの、分子設計、コンストラクトの調動	詳細に構造評価をする必要が生じた 同定することに成功した。機能エレ 製まで実験を進めることができた。
2. 今後の研究の推進方策	į		
(今後の推進方策) 構造エレメント評価につい 入変異解析を行うことで、 を終了しており、精製条件、機能エレメントを用いた	Nでは、 1領域について位置保存 構造エレメントの位置保存性を Fの検討した上、活性評価を行うる 機能設計の基盤を整備する。	「性を検証することができた。次年度以 検証する。機能エレメントの移植につい ことで機能改変の可能性について継続し	、降、他の領域に対してもアラニン挿 いては、すでにコンストラクとの作製 して検証を続ける。この結果を踏まえ

10. キーワード

13.研究発表(平成23年度の研究成果)

〔雑誌論文〕計(2)件 うち査読付論文 計(2)件

	著 者	名					論	文	標	題					
Misao Mizuno					Changes in the hydroger ground and excited state		rk arou	nd the	chror	mophor	e of	pho	toac	tive	yellow protein in the
		雑	誌	名		査読の有無		差	ŧ			発行	厅年		最初と最後の頁
J. Phys. Chem. B						有		11	5		2	0	1	1	9306-9310
					掲載論文のDOI(デジ	タルオブジェク	7卜識別-	子)							
なし															

著 者 名			論	文 標	題		
Nur Alia Oktaviani	Comprehensive determin indirect 13C NMR spectr		in tyros	ine pKa va	alues foi	r photoactive yell	ow protein using
雑誌名	-	査読の有無		巻		発行年	最初と最後の頁
Biophys. J.		有		102		2 0 1 1 1	579-586
	掲載論文のDOI(デジタ	7ルオブジェク	ト識別日	주)			
なし							

〔学会発表〕計(8)件 うち招待講演 計(6)件

発 表 者 名			発	表	標	題
上久保裕生	Physicocher	nical properties of low bar	rier hyd	rogen	bond	ds
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 国際公開シンポジウム(招待講演)	科学」第5回	2011年07月13日	北海道	札幌	क्ते	

発 表 者 名		発 表 標 題	
上久保裕生	蛋白質中の低障壁水素結合と高次	構造転移	
学会等名	発表年月日	発表場所	
九重分光関連夏期セミナー2011(招待講演)	2011年07月29日	大分県玖珠郡九重町	
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	支散乱	
24 A Mr A7	ジェケロロ	70 ± 18 cr	
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 XRF, SAXS実験の展望」(招待講演)	た XAFS, 2011年09月07日	茨城県つくば市	
八代,57 VO 天顺X 07 区主 [[]日刊明/天]			
発表者名		光表標題	
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	
学会等名		発表場所	
チェス・ザーロ 特定領域研究「高次系分子科学」第12回ミニ公開シ			
「光受容蛋白質」(招待講演)	2011年10月27日	受 州示浦仰巾	
改丰业力	Γ	び = +番 時	
発表者名	The section of the last bearing to the	発表標題	
上久保裕生	The roles of the low parrier hydrogo	en bond involved in Photoactive Yellow Protein	
学 会 等 名		発表場所	
구 중 국 ロ 17th International Biophysics Congress (IUPAB)	2011年11月02日	Beijing, China	
Tran international biophysics Congress (IOFAD)	2011年11万02日	Boijing, Offina	

発 表 者 名			発 表 標 題		
上久保裕生	Physicoche	mical properties of low ba	arrier hydrogen bonds involved	in proteins	
	•		, ,	•	
学 会 等 名		発表年月日	発	表 場 所	
2011 GIST-NAIST-NCTU Joint Symposium on Adv	anced	2011年11月14日	Gwangju, Korea		
Materials(招待講演)			3,7 , 3 , 4		
		-	-		
発 表 者 名			 発 表 標 題		
	Dhyaiaaaha	mical proportion of law bo	arrier hydrogen bonds involved	in Photocotive V	Mow Protoin
工人体俗主 	Physicochei	filical properties of low ba	arrier nydrogen bonds involved	in Photoactive re	ellow Protein
学 会 等 名		発表年月日		表場所	
1st Asia-Oceania Conference on Neutron Scatterin	a / t刀/共≐華	2011年11月24日	茨城県つ〈ば市	C -90 171	
演)	9(101寸碑	2011年11月24日	次城県 ノ(は山		
		•	•		<u> </u>
改主之力			☆ = +亜 15		
発表者名			発表標題 		
上久保裕生	The Roles of Yellow Prot	of the Low Barrier Hydro	gen Bond Involved in the Light	Sensor Protein, F	hotoactive
	reliow Prot	em			
学 会 等 名		発表年月日		表場所	
The 5th International Symposium on Molecular Science	nco of	2012年01月07日	奈良県奈良市	C -30 1/1	
Fluctuations toward Biological Functions	ilice oi	2012年01月07日	水及未水及印		
i luctuations toward biological i unotions					
		•			
(m=+) +1 (
[図書] 計(0)件					
著 者 名			出 版 社		
	-	-		=v /= /-	h/1
	書名	<u> </u>		発行年	総ページ数
				<u> </u>	
				i i i	
				! ! !	
				1 1 1 1	
				1 ! ! !	

14.研究成果による産業財産権の出願・取得状況

(出願) 計(())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
					<u> </u>
[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

[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										