

様 式 C - 7 - 1

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 2 3 年度 ~ 平成 2 5 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
2 0 3 1 1 1 2 8	カミコ 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

研究 者 番 号	研究 分 担 者 名	所属研究機関名・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
4 0 3 3 2 7 7 0	ヤマザキ ヨウイチ 山崎 洋一	物質創成科学研究科	助教

9. 研究実績の概要

<p>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」蛋白質間での、エレメントの位置保存性を確認し、さらに、蛋白質間でのエレメントの交換可能性について検証した。</p> <p>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間では、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ヘ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末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。</p> <p>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。</p>
--

10. キーワード

(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)

11. 現在までの達成度

(区分)(2) おおむね順調に進展している。

(理由)

SNDの網羅的アラニン挿入変異解析の過程で、円偏光二色性分光測定による解析の結果から、より詳細に構造評価をする必要が生じた。そこで、新たに赤外吸収分光装置を購入し、測定を行うことによって、SNDの構造エレメントを同定することに成功した。機能エレメント移植に関しては、機能評価実験には至らなかったものの、分子設計、コンストラクトの調製まで実験を進めることができた。

12. 今後の研究の推進方策

(今後の推進方策)

構造エレメント評価については、1領域について位置保存性を検証することができた。次年度以降、他の領域に対してもアラニン挿入変異解析を行うことで、構造エレメントの位置保存性を検証する。機能エレメントの移植については、すでにコンストラクトの作製を終了しており、精製条件の検討した上、活性評価を行うことで機能改変の可能性について継続して検証を続ける。この結果を踏まえ、機能エレメントを用いた機能設計の基盤を整備する。

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 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	115	2	0	1	1	9306-9310
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			
Nur Alia Oktaviani		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	102	2011	579-586
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(8)件 うち招待講演 計(6)件

発 表 者 名		発 表 標 題				
上久保裕生		Physicochemical properties of low barrier hydrogen bonds				
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(招待講演)		2011年07月13日	北海道札幌市			

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線溶液散乱	
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」(招待講演)	2011年09月07日	茨城県つくば市

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	
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」(招待講演)	2011年10月27日	愛知県蒲郡市

発 表 者 名	発 表 標 題	
上久保裕生	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02日	Beijing, China

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

--