

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 8 月 13 日現在

機関番号：22701

研究種目：新学術領域研究(研究領域提案型)

研究期間：2009～2013

課題番号：21113001

研究課題名(和文)天然変性タンパク質の分子認識機構と機能発現

研究課題名(英文)Target recognition and expression mechanism of intrinsically disordered protein

研究代表者

佐藤 衛(Sato, Mamoru)

横浜市立大学・その他の研究科・教授

研究者番号：60170784

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 28,300,000円、(間接経費) 8,490,000円

研究成果の概要(和文)：当該総括班は、構造生物学、分子生物学、情報生物学の研究者が密接に連携し、天然変性タンパク質の様々な特徴や性質、機能を理論的・実験的に明らかにする計画研究の目的を達成するために、総括班会議、研究代表者分担者連絡会議、領域全体会議を定期的で開催した。また、各計画研究班および公募研究班に対して、それぞれの研究進捗を把握して助言を与えた。さらに、各種学会でのシンポジウムの企画、国際シンポジウム、公開シンポジウム等を開催して、国内外に向けて当該研究で得られた研究成果を発信した。また、若手研究者の育成のため、5年間の研究期間内に4回の若手研究者の育成のための技術講習会を開催し、若手研究者の育成に努めた。

研究成果の概要(英文)：The management group has supported with every aspect so that scientists in the fields of structure biology, molecular biology and bioinformatics within this innovated research project can work together to elucidate the structures and properties of intrinsically disordered proteins. In fact, the group has annually held several management and research meetings, and has given appropriate advice to all the research groups within this research project. Also, the management group has planned special workshops for young researcher resource development within the research duration of five years as well as international symposia and open symposia in annual meetings of several scientific societies.

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・構造生物科学

キーワード：天然変性タンパク質 X線小角散乱 高速AFM NMR 核内タンパク質

1. 研究開始当初の背景

天然変性タンパク質は真核生物に数多く見られるのが特徴で、真核生物ではその33%のタンパク質が長大な天然変性領域をもつのに対し、古細菌や真正細菌ではわずか2%、4%に過ぎない。さらに、DNAの複製・転写・修復・組換えなどに関わる核内タンパク質に注目すると、ヒトの転写関連因子では実にその50%が長大な天然変性領域を含んでいると予測されている。このような天然変性タンパク質によるターゲット分子の認識機構は立体構造を形成して機能する従来タンパク質とは本質的に異なることが予想され、タンパク質の構造・機能研究の新しいターゲットとして注目されるようになった。しかしながら、このように揺らぎの大きな天然変性タンパク質の構造・機能研究はX線結晶構造解析や電子顕微鏡などの既存の手法だけでは困難で、構造生物学、情報生物学、分子生物学の研究者が有機的に連携して推進していく必要があった。このようなことから、当該総括班では異なる学問分野の研究者が密接に連携して行う共同研究等を推進して、天然変性タンパク質の様々な特徴や性質、機能を理論的・実験的に明らかにする計画研究を推進していく必要があった。

2. 研究の目的

単独では変性状態であるがターゲット分子と相互作用すると高次構造が誘起される天然変性タンパク質は、複数のターゲット分子と相互作用する細胞内ネットワークのハブ(中核)タンパク質として非常に重要な役割を担っている。本領域研究では、構造生物学、分子生物学、情報生物学の3分野の研究者が連携して天然変性タンパク質がどのような機構で構造や機能が異なる複数のターゲット分子と相互作用して高次構造を誘起し(分子認識)、機能を発現するかについて、その構造科学的・機能科学的基盤を理論的・実験的に解明する。そして、次世代の生命科学の礎となる物理学・化学・生物学が真に融合した新しい学際的な研究領域の構築を目指す。そのためには上記3研究分野の協力・連携関係が不可欠で、それを支援していくのが本総括班の目的である。そのために総括班は連携研究を推進し、その進捗状況を常時把握してそれぞれの計画研究が本領域の目指している方向に正しく進んでいるかどうかを正確に評価して助言・提言を行っていく必要がある。また、公募研究の必要性を認識して応募研究の中から本領域研究の推進に寄与する研究課題を採択し、有望な若手研究者の発掘・育成に努める。

3. 研究の方法

総括班会議、研究代表者分担者連絡会議、領域全体会議を定期的に開催した。また、各計画研究班および公募研究班に対して、それぞれの研究進捗を把握して助言を与えた。さらに、各種学会でのシンポジウムの企画、国際シンポジウム、公開シンポジウム等を開催して、国内外に向けて当該研究で得られた研究成果を発信した。また、若手研究者の育成のため、5年間の研究期間内に4回の若手研究者の育成のための技術講習会を開催した。

4. 研究成果

各年度の総括班の活動は以下の通り。

平成21年度

- (1) 総括班研究代表者分担者連絡会議(8月28日、横浜市立大学鶴見キャンパス)
- (2) 総括班会議(10月21日、神戸国際展示場2号館2階2B会議室)
- (3) 領域会議(1月19日、横浜市立大学鶴見キャンパス)
- (4) 公開シンポジウム(1月19日、理化学研究所横浜研究所交流棟ホール)

平成22年度

- (1) 領域会議(5月26日-28日、鳥取県大山ロイヤルホテル・ロイヤルホール)
- (2) 総括班会議(5月27日、鳥取県大山ロイヤルホテル・会議室)
- (3) 第1回若手育成講習会(9月10日、横浜市立大学鶴見キャンパス)「コンピュータによる天然変性タンパク質(領域)の探索」
- (4) 第1回国際シンポジウム(1月27日-28日、横浜市、浜銀ホール・ヴィアマーレ)

平成23年度

- (1) 若手育成講習会(4月26日 大阪大学蛋白質研究所)「NMRによるタンパク質解析法の基礎的理解(概論と実習)」
- (2) 領域会議(6月29日~7月1日 宮崎県青島パームビーチホテル ブーゲンビリア)
- (3) 第1回総括班会議(6月30日 宮崎県青島パームビーチホテル 龍王)
- (4) 第2回公開シンポジウム(1月24日~25日 大阪千里ライフサイエンスセンター)
- (5) 第2回総括班会議(1月24日 大阪千里ライフサイエンスセンター)

平成24年度

- (1) 領域会議(5月30日~6月1日 北海道北広島クラッセホテル)
- (2) 第1回総括班会議(5月31日 北海道北広島クラッセホテル)
- (3) 若手育成講習会(9月12日~13日 理化学研究所播磨研究所)「X線溶液散乱法によるタンパク質の構造解析法の基礎的理解」
- (4) 第2回国際シンポジウム(1月23日~24

日 理化学研究所横浜研究所交流棟ホール)

平成 25 年度

- (1) 若手育成講習会 (5 月 22 日~23 日 高エネルギー加速器研究機構) 「X線溶液散乱法によるタンパク質の構造解析法の基礎的理解 (講義と実習)」
- (2) 領域会議 (9月3日~5日 ひだホテルプラザ)
- (3) 第 1 回総括班会議 (9 月 4 日 ひだホテルプラザ)
- (4) 第 3 回公開シンポジウム (2 月 27 日~28 日 九州大学医学部百年講堂)

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 17 件)

1. M. Sugiyama, Y. Arimura, K. Shirayama, R. Fujita, Y. Oba, N. Sato, R. Inoue, T. Oda, M. Sato, R. K. Heenan, and H. Kurumizak, Distinct Features of the Histone Core Structure in Nucleosomes Containing the Histone H2A.B Variant, *Biophysical J.*, 106, 2014, 2206-2213, doi: 10.1016/j.bpj.2014.04.007
2. Kagawa, W., Arai, N., Ichikawa, Y., Saito, K., Sugiyama, S., Saotome, M., Shibata, T. and Kurumizaka, H. Functional analyses of the C terminal half of the *Saccharomyces cerevisiae* Rad52 protein. *Nucleic Acids Res.* 査読有, 42, 2014, 941-951, doi: 10.1093/nar/gkt986
3. Fukuchi, S., Amemiya, T., Sakamoto, S., Nobe, Y., Hosoda, K., Kado, Y., Murakami, S. D., Koike, R., Hiroaki, H., and Ota, M., IDEAL in 2014 illustrates interaction networks composed of intrinsically disordered proteins and their binding partners, *Nucleic Acids Res.*, 査読有, 42, 2014, D320-D325, doi: 10.1093/nar/gkt1010
4. Koike, R., Ota, M., and Kidera, A., Hierarchical description and extensive classification of protein structural changes by Motion Tree, *J. Mol. Biol.* 査読有, 426, 2014, 752-762, doi: 10.1016/j.jmb.2013.10.034
5. Y. Arimura, H. Kimura, T. Oda, K. Sato, A. Osakabe, H. Tachiwana, Y. Sato, Y. Kinugasa, T. Ikura, M. Sugiyama, M. Sato, and H. Kurumizaka, Structural basis of a nucleosome containing histone H2A.B/H2A.Bbd that transiently associates with reorganized chromatin, *Sci. Rep.* 3, 2013, 3510, DOI:10.1038/srep03510
6. Miura, T., Shibata, T. and Kusano, K. Putative antirecombinase Srs2 DNA helicase promotes noncrossover homologous recombination avoiding loss of heterozygosity. *Proc Natl Acad Sci USA.* 査読有, 110, 2013, 16067-16072, doi: 10.1073/pnas.1303111110
7. J. Trehwella, W. A. Hendrickson, G. J. Kleywegt, A. Sali, M. Sato, T. Schwede, D. I. Svergun, J. A. Tainer, J. Westbrook, and H. M. Berman, Report of the wwPDB Small-Angle Scattering Task Force: Data Requirements for Biomolecular Modeling and the PDB, *Structure*, 査読有, 21, 2013, 875-881, doi: 10.1016/j.str.2013.04.020
8. Tenno, T., Goda, N., Umetsu, Y., Ota, M., Kinoshita, K., and Hiroaki, H., Accidental interaction between PDZ domains and diclofenac revealed by NMR-assisted virtual screening, *Molecules*, 査読有, 18, 2013, 9567-9581, doi: 10.3390/molecules18089567
9. Azegami, N., Saikusa, K., Todokoro, Y., Nagadoi, A., Kurumizaka, H., Nishimura, Y., and Akashi, S., Conclusive evidence of the reconstituted hexasome proven by native mass spectrometry, *Biochemistry*, 査読有, 52, 2013, 5155-5157, doi: 10.1021/bi4005655
10. Saikusa, K., Fuchigami, S., Takahashi, K., Asano, Y., Nagadoi, A., Tachiwana, H., Kurumizaka, H., Ikeguchi, M., Nishimura, Y., and Akashi, S., Gas-phase structure of the histone multimers characterized by ion mobility mass spectrometry and molecular dynamics simulation, *Anal. Chem.* 査読有, 85, 2013, 4165-4171, doi: 10.1021/ac400395j
11. Higo, J., Umezawa, K., and Nakamura, H., A virtual-system coupled multicanonical molecular dynamics simulation: Principle and its application to free-energy landscape of protein-protein interaction with an all-atom model in explicit solvent, *J. Chem. Phys.* 査読有, 138, 2013, 184106, doi: 10.1063/1.4803468
12. K. Arita, S. Isogai, T. Oda, M. Unoki, K. Sugita, N. Sekiyama, K. Kuwata, R. Hamamoto, H. Tochio, M. Sato, M. Ariyoshi, and M. Shirakawa, Recognition of modification status on a histone H3 tail by linked histone reader modules of the epigenetic regulator UHRF1, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 109, 2012, 12950-12955, doi: 10.1073/pnas.1203701109
13. Higo, J. and Nakamura, H, Virtual states introduced for overcoming entropic barriers in conformational space, *Biophys.* 査読有, 8, 2012, 139-144, doi: 10.1021/ac400395j
14. Okuwaki, M., Sumi, A., Hisaoka, M., Saotome-Nakamura, A., Akashi, S., Nishimura, Y., and Nagata, K., Function of homo- and hetero-oligomers of human nucleoplamin/nucleophosmin family proteins NPM1, NPM2 and NPM3 during sperm chromatin remodeling, *Nucleic Acid*

- Res., 査読有, 40, 2012, 4861-4878, doi: 10.1093/nar/gks162
15. Miura, T., Yamana Y, Usui, T., Ogawa, H. I., Yamamoto, M. T., and Kusano, K., Homologous recombination via synthesis-dependent strand annealing in yeast requires the Irc20 and Srs2 DNA helicases, *Genetics*, 査読有, 191, 2012, 65-78, doi: 10.1534/genetics
 16. Okuwaki, M., Sumi, A., Hisaoka, M., Saotome-Nakamura, A., Akashi, S., Nishimura, Y., and Nagata, K., Function of homo- and hetero-oligomers of human nucleoplasm/nucleophosmin family proteins NPM1, NPM2, and NPM3 during sperm chromatin remodeling, *Nucleic Acid Res.*, 査読有, 286, 2011, 17607-17617, doi: 10.1093/nar/gks162
 17. Arai, N., Kagawa, W., Saito, K., Shingu, Y., Mikawa, T., Kurumizaka, H., and Shibata, T. Vital roles of the second DNA-binding site of Rad52 in yeast homologous recombination, *J. Biol. Chem.* 査読有, 286, 2011, 17607-17617, doi: 10.1074/jbc
- [学会発表] (計 23 件)
1. 佐藤 衛, 天然変性領域をターゲットにした抗体医薬の創成を目指して、第 13 回日本蛋白質科学会年会、6/12-6/14、2013、とりぎん文化会館
 2. 西村善文, 神経疾患における天然変性タンパク質の認識と創薬、第 13 回日本蛋白質科学会年会、6/12-6/14、2013、とりぎん文化会館
 3. 菊池壮太郎、原幸大、清水敏之、佐藤 衛、橋本 博、REV7-REV3 複合体構造から示唆される REV7/Mad2L2 と赤痢菌タンパク質 IpaB との相互作用、第 13 回日本蛋白質科学会年会、6/12-6/14、2013、とりぎん文化会館
 4. Mamoru Sato, Protein dynamics investigated by SAXS and MD simulation, International Conference on Structural Genomics-Structural Life Science-, 7/29-8/1, 2013, Keio Plaza Hotel Sapporo
 5. 篠原魁、井川肅子、岩崎わかな、美川務、柴田武彦、RecA の L1 loop 領域は DNA 結合を制御する、第 36 回日本分子生物学会、12/5, 2013, 神戸ポートアイランド
 6. Saikusa K., Kuwabara N., Kokabu Y., Sato, M., Iwasaki H., Ikeguchi M. and Akashi S., Behavior of intrinsically disordered regions within a protein complex of Swi5-Sfr1 characterized by ion mobility mass spectroscopy, The 60th ASMS Conference of Mass Spectrometry and Allied Topics, 5/20-5/24, 2012, Vancouver Convention Center, Canada
 7. Ishino, Y., Intrinsically disordered regions of the proteins related to stalled replication fork repair, 第 34 回日本分子生物学会年会、2011 年 12 月 14 日、パシフィコ横浜
 8. Sato, M., Toward the structural characterization of intrinsically disordered proteins by SAXS and MD simulation, 第 34 回日本分子生物学会年会、2011 年 12 月 14 日、パシフィコ横浜
 9. Ota, M., Database for the research of intrinsically disordered proteins, 第 34 回日本分子生物学会年会、2011 年 12 月 14 日、パシフィコ横浜
 10. Nishimura, Y., NMR studies on chromatin-related proteins, 第 34 回日本分子生物学会年会、2011 年 12 月 14 日、パシフィコ横浜
 11. Mikawa, T., Ito, Y., Shibata, T., Local folding of the N-terminal domain of RecA upon protein-protein/protein-DNA interactions and its role, 第 34 回日本分子生物学会年会、2011 年 12 月 14 日、パシフィコ横浜
 12. 佐藤 衛, 天然変性タンパク質研究: タンパク質の構造・機能研究の新しいパラダイム、第10回日本蛋白質科学会年会、6/16-6/18, 2010、札幌コンベンションセンター
 13. 柴田武彦, 相同組換え開始制御に働く天然変性タンパク質の機能、第10回日本蛋白質科学会年会、6/16-6/18, 2010、札幌コンベンションセンター
 14. 石野良純, DNA 複製フォーク進行停止の修復に関わる天然変性タンパク質、第 10 回日本蛋白質科学会年会、6/16-6/18, 2010、札幌コンベンションセンター
 15. 太田元規, NMR モデルを利用した天然変性領域のアサインメント、第 10 回日本蛋白質科学会年会、6/16-6/18, 2010、札幌コンベンションセンター
 16. 西村善文, 天然変性タンパク質の認識機構の多様性と創薬への道、第 10 回日本蛋白質科学会年会、6/16-6/18, 2010、札幌コンベンションセンター
 17. 肥後順一, 天然変性蛋白質 NRSF とパートナー蛋白質 Sin3 の結合/折り畳みの自由エネルギー地形、第 10 回日本蛋白質科学会年会、6/16-6/18, 2010、札幌コンベンションセンター
 18. 佐藤 衛, X線小角散乱法と分子動力学シミュレーションを組み合わせた天然変性タンパク質動的構造解析法の開発、第82回日本生化学会年会、10/21-10/24, 2009、神戸ポートアイランド
 19. 柴田武彦, 新井直人, 凌 楓, 香川 亘, 胡桃坂 仁志, 井上 仁, 新宮 良宣, 美川務, 相同 DNA 組換えにおける天然変性領域の機能、第 82 回日本生化学会年会、

- 10/21-10/24, 2009、神戸ポートアイランド
20. 太田元規、福地佐斗志、天然変性タンパク質のデータベース構築と解析、第82回日本生化学会年会、10/21-10/24, 2009、神戸ポートアイランド
 21. 肥後順一、マルチカノニカル分子動力学シミュレーションによる天然変性蛋白質の自由エネルギー地形、第82回日本生化学会年会、10/21-10/24, 2009、神戸ポートアイランド
 22. 西村善文、天然変性転写関連タンパク質、第82回日本生化学会年会、10/21-10/24, 2009、神戸ポートアイランド
 23. 西村善文、天然変性タンパク質による転写調節機構、第32回日本分子生物学会年会、12/9-12/12, 2009、パシフィコ横浜

〔図書〕(計2件)

1. Higo J., Springer, Protein conformational dynamics: Free-energy landscape of intrinsically disordered proteins investigated by all-atom multicanonical molecular dynamics, 2012, 10
2. Higo J., Umezawa K., Springer, "Protein Conformational Dynamics" in Advances in Experimental Medicine and Biology" Vol. 805, 2014, 21

〔産業財産権〕

○出願状況 (計0件)

〔その他〕

ホームページ

<http://www.tsurumi.yokohama-cu.ac.jp/IDP/results.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐藤 衛 (SATO, Mamoru)

横浜市立大学・大学院生命医科学研究科・教授

研究者番号：60170784

(2) 研究分担者

柴田 武彦 (SHIBATA, Takehiko)

理化学研究所・遺伝制御科学特別研究ユニット・ユニットリーダー

研究者番号：70087550

太田 元規 (OTA, Motonori)

名古屋大学・大学院情報科学研究科・教授
研究者番号：40290895

明石 知子 (AKASHI, Satoko)

横浜市立大学・大学院生命医科学研究科・准教授

研究者番号：10280728

石野 良純 (ISHONO, Yoshizumi)

九州大学・大学院農学研究院・教授

研究者番号：30346837

肥後 順一 (HIGO, Jyunichi)

大阪大学・蛋白質研究所・特任研究員

研究者番号：80265719

西村 善文 (NISHIMURA, Yoshifumi)

横浜市立大学・大学院生命医科学研究科・教授

研究者番号：70107390

(3) 連携研究者

藤井 義明 (FUJII, Yoshiaki)

東北大学・名誉教授／東京医科歯科大学難治疾患研究所・客員教授

研究者番号：00098148

石川 冬木 (ISHIKAWA, Fuyuki)

京都大学・大学院生命科学研究科・教授

研究者番号：30184493

中村 春木 (NAKAMURA, Haruki)

大阪大学・蛋白質研究所・教授

研究者番号：80134485

森川 耿右 (MORIKAWA, Kousuke)

国際高等研究所・チーフリサーチフェロー

研究者番号：50135513