

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		生命現象における「水」のはたらき解明に向けた異分野融合的アプローチ			
研究テーマ (欧文) AZ		Multidisciplinary approaches for understanding the role of water in biological reactions			
研究氏 代表名 者	カカナ CC	姓) ヨシムラ	名) シゲヒロ	研究期間 B	2015 ~ 2017 年
	漢字 CB	吉村	成弘	報告年度 YR	2017 年
	ローマ字 CZ	Yoshimura	Shigehiro	研究機関名	京都大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		京都大学・准教授			
<p>概要 EA (600字~800字程度にまとめてください。)</p> <p>細胞質のような分子が混み合った環境では、水は均質な溶媒ではなく、システムを構成する重要な要素である。本研究では、生物学、化学、物理学などの様々な分野での技術と知見を統合しながら、水と生体高分子との相互作用を明らかにし、生命現象の根源に存在する多様な生体反応における水の役割を明らかにすることを目的として研究を遂行し、これまでに以下の成果を得た。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・両親媒性 α ヘリクスから構成されるタンパク質構造モチーフ(HEATt, Arm repeat 等)に関して、その折りたたみにおける溶媒の影響を解析し、球状のタンパク質に比べて、折りたたみの自由エネルギーが小さいこと、折りたたみの協調性が低いことを明らかにした。これは、タンパク質の折りたたみにおける溶媒和(水和)の効果や、その機能との関連性を考える上で、重要な知見である。 ・HEAT Repeat には、外側の α ヘリクスにのみプロリン残基が頻繁に見られる。ここでは、その構造的、機能的意義を明らかにした。HEAT repeat タンパク質である Karyopherin β の α ヘリクスに含まれるプロリン(15個)をすべてアラニンに置換した変異体を作成し、その機能(核輸送活性)や構造を検証した結果、これらのプロリン残基は、タンパク質の構造的柔軟性に重要な役割を果たしており、これがなくなると、核輸送活性が著しく阻害されることを明らかにした。 ・細胞内のようにタンパク質が高度に混雑した環境では、水和水、分子間相互作用、などが希薄溶液と大きく異なることが知られているが、生きた細胞内における分子混雑の定量、分布等に関しては不明な点が多い。ここでは、クラウドイング感受性 FRET プローブ(GimRET)を用いて、細胞内小器官や構造体(核小体、ストレス顆粒、核膜孔複合体)における分子クラウドイングを定量し、その機能との関係性を明らかにした。 					
キーワード FA	両親媒性ヘリクス	分子クラウドイング	ヘリカルリピート	水とエネルギー	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}	Prolines in the α -helix confer the structural flexibility and functional integrity of importin \square							
	著者名 ^{GA}	M. Kumeta, et al.	雑誌名 ^{GC}	Journal of Cell Science					
	ページ ^{GF}	印刷中	発行年 ^{GE}	2	0	1	7	巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}	<i>In vivo</i> analysis of protein crowding within the nuclear pore complex in interphase and mitosis							
	著者名 ^{GA}	H.A. Konishi, et al.	雑誌名 ^{GC}	Scientific Reports					
	ページ ^{GF}	5709	発行年 ^{GE}	2	0	1	7	巻号 ^{GD}	7(1)
雑誌	論文標題 ^{GB}	Dissecting <i>in vivo</i> steady-state dynamics of karyopherin-dependent nuclear transport.							
	著者名 ^{GA}	O. Lolodi et al.	雑誌名 ^{GC}	Molecular Biology of the Cell					
	ページ ^{GF}	167~176	発行年 ^{GE}	2	0	1	6	巻号 ^{GD}	27(1)
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要 EZ

- i) We investigated folding energy of helical repeat proteins, which are composed an array of a pair of amphiphilic α -helices, and found that their folding free energy is smaller than globular proteins of similar molecular mass, and that their folding process is less cooperative.
- ii) We investigated the role of proline residues in helical repeat proteins. A mutant of Karyopherin β (HEAT repeat protein), in which 15 proline residues in α -helices were substituted by alanine, had reduced structural flexibility and retarded nuclear transport activity, indicating that α -helical proline residues play important roles in structural flexibility of helical repeat proteins.
- iii) We utilized crowding-sensitive FRET probe (GimRET) to quantify protein crowding in a living cell. We could successfully revealed special distribution of crowding in intracellular organelle and architectures, and quantified the degree of crowding. We also revealed how crowded environments composed of intrinsically disordered proteins in the nuclear pore complex plays a role in its function as a selective molecular sieve.