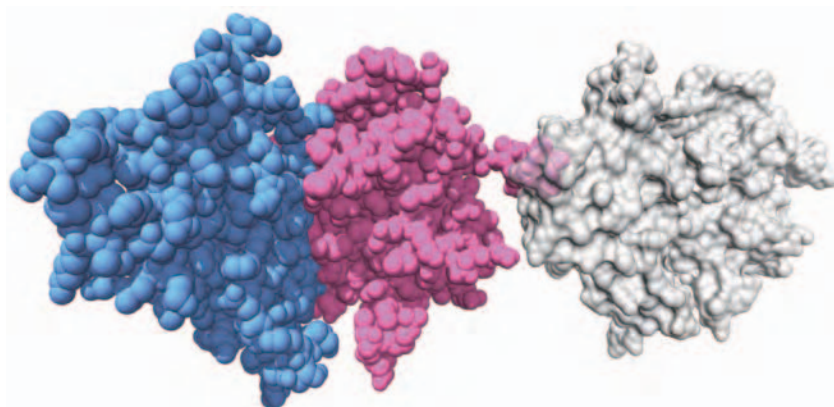


大阪大学 蛋白質研究所要覧 2014





目次

所長あいさつ	1
理念と展望	2
沿革	3
機構	4
歴代所長・名誉教授 運営協議会委員	
教職員	6
構成員 / 決算 / 教育・研究活動	9
構成員数 決算 定期刊行物 教育活動 研究活動	
共同利用・共同研究拠点 / 国際交流	20
共同研究員 / 国際共同研究 蛋白質研究所セミナー 国際交流	
蛋白質化学研究部門	
生体反応統御研究室	25
細胞外マトリックス研究室	26
エピジェネティクス研究室	27
蛋白質有機化学研究室	28
蛋白質構造生物学研究部門	
蛋白質構造形成研究室	29
機能構造計測学研究室	30
蛋白質結晶学研究室	31
膜蛋白質化学研究室	32
蛋白質高次機能学研究部門	
ゲノムー染色体機能研究室	33
神経発生制御研究室	34
分子発生学研究室	35
細胞核ネットワーク研究室	36
体内環境統合蛋白質研究グループ	37
蛋白質国際統合研究部門	
外国人客員 PI 研究室	39
国内客員研究室	40
特任教授研究室	41
附属蛋白質解析先端研究センター	43
機能・発現プロテオミクス研究室	44
分子創製学研究室	45
超分子構造解析学研究室	46
蛋白質情報科学研究室	47
先端計測研究室	48
データベース開発研究室	50
産学・国際連携研究室	52
主要装置	53
建物配置図	54
案内図	55

所長あいさつ

蛋白質研究所 所長 中村 春木



地球上の生命機能は、ゲノム情報が物理的に発現した蛋白質によって担われており、多数の蛋白質間の相互作用によって複雑な生命活動が営まれています。蛋白質研究所は、蛋白質の基礎研究を通じて生命活動の原理を明らかにすることを使命として、1958年に大阪大学の理学部と医学部が母体となって創設されました。化学、物理学、生物学、医学の研究者が集まり、学際的な場で斬新なアイデアを競い合う素地が当初からありました。それ以来今日まで、蛋白質研究所では、蛋白質を対象とした分子レベルから細胞レベル、さらに高次の階層に渡る優れた研究がなされ、国内外にわたり常に蛋白質研究

の先端を走ってまいりました。創設後55年余を経た今、4研究部門16研究室に加え、蛋白質解析に関する独創的な方法論の開発とその応用を行う附属蛋白質解析先端研究センター7研究室を擁する規模に成長しています。

創設以来、全国から多くの所外研究者が蛋白質研究所を訪れ、研究所の施設・装置や研究のノウハウを共用して研究を行うことができる全国共同利用研究所として、活動してまいりました。この共同利用制度は改革がなされ、2010年4月から蛋白質研究共同利用・共同研究拠点として、SPring-8のシンクロトロン・ビームライン利用、超高磁場核磁気共鳴（NMR）装置群の利用、蛋白質構造データベースの構築と公開等、蛋白質研究のコミュニティーに一層貢献できる体制と仕組みを作り、さらに活発に活動を続けております。特にデータベース事業では、蛋白質立体構造データバンク（PDB）の世界4拠点の一つとしてPDBjを運営し、アジア・オセアニア地区のデータ登録や種々のサービスを行うとともに、PDBj-BMRB として生体系NMRデータバンクを米国BMRBと共同して運営しています。また、広く海外からも共同利用・共同研究を募って行える体制も作り、多くの新規な国際共同研究が進められています。

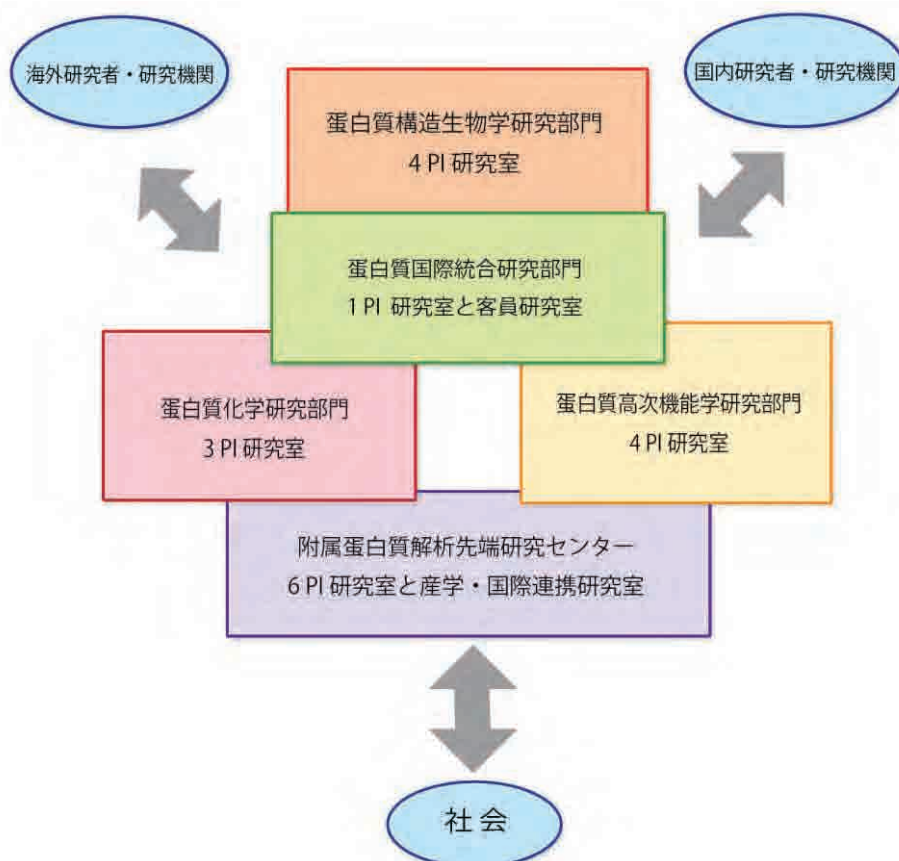
蛋白質研究所に籍を置く40数名の教員は、各々先端的な研究を進める一方、それらの研究に裏打ちされた授業や実習を大阪大学理学部と医学部および大学院理学研究科、医学系研究科、生命機能研究科において積極的に行っています。また、これらの学部と大学院を合わせて常時100名前後の学生が蛋白質研究所に配属されています。さらに、70名程度の博士研究者が様々な研究プロジェクトに関わって日夜研究に精を出しています。これらの学生や博士研究員は世界各地から集まってきており、所内では国際的な交流が日常的に行われています。

蛋白質科学は、ゲノム科学の進展に伴い、個々の蛋白質の構造と機能を研究するという従来型の学問から急激に変貌し、個々の蛋白質の詳細な構造と機能の情報に立脚しつつ、生命機能を発現する蛋白質集合体をシステムとして理解し、生命情報の流れを蛋白質相互作用として解明しようとしています。すなわち、蛋白質の構造解析は今やゴールではなく、その構造を出発点とし、蛋白質ネットワークに基づく様々なスケールによって生命科学研究がなされる「構造生命科学」とも呼ばれる学問が進展しています。蛋白質研究所では、その伝統に基づきつつ、新たなフェーズである構造生命科学の基礎研究にさらに邁進し、大阪大学の理念である「物事の本質を見極める」研究と教育を実践していきます。一方で、附属蛋白質解析先端研究センターの産学・国際連携研究室や産業利用支援プログラム、データベース構築等の活動を通じて、企業や他の外部組織と連携して社会へのアウトプットも積極的に行ってまいります。これらの成果は、蛋白質研究所のホームページ（<http://www.protein.osaka-u.ac.jp/>）を通じて発信していく所存です。

理念と展望

現在の蛋白質を対象とする研究は、生命科学や物質科学の基礎から応用分野まで多方面で行われるようになった。これらの研究を発展させていくためには、異なる専門分野の研究者が密接に協力して集中的に研究を進めていくことが不可欠であり、それにふさわしい充実した設備・施設と陣容を備えた研究所を設けて、開かれた組織として全国の研究者の研究推進や交流の場として活用できるシステム作りが望まれている。蛋白質研究所はこのような要請に応えるべく、創設当時から現在まで半世紀にわたり、化学、物理化学、生物、医学の分野で蛋白質の構造・機能の研究を行い、さまざまな高次生命機能を明らかにすることをめざして不断的な努力を積み重ねてきている。蛋白質研究に関する技術の進歩は著しい。構造解析の手法が飛躍的に進歩し、複雑な蛋白質分子や超分子複合体の構造が次々と明らかにされている。また、化学合成法の進展によって、蛋白質を大量に人工合成することや翻訳後修飾をうけた状態の蛋白質の合成も可能となっている。本研究所はこれらの発展に寄与すると同時に、その方法論を活用して蛋白質の生理機能を分子・原子レベルで解明する研究、すなわち遺伝子の発現制御、細胞内外の情報伝達、生体エネルギー変換等の仕組みの研究を精力的に行っている。今後は、ゲノム情報に書き込まれている生命の設計図から作られる蛋白質の部品が、どのように組み上がって分子装置として生理機能を発揮するのかを、ポストゲノム時代の蛋白質科学や構造生命科学の立場から解明することが益々重要となってくるであろう。そのために、膜蛋白質も含めた多様な蛋白質が集合してつくるネットワークを対象にしたシステムの研究を通して、生命秩序形成のメカニズムを明らかにしていく必要がある。本研究所はこのような理念の下、「蛋白質素子から生命システムへ」を合い言葉に全構成員が協働する第2期中期計画のプロジェクト研究を2010年4月からスタートしている。また、本研究所は、共同利用・共同研究拠点として、国内外の蛋白質研究コミュニ

ティーに優れた研究の場を提供して、研究者ネットワークづくりを進めていく使命も帯びている。今日では、蛋白質立体構造データベース（wwPDB）の世界3大拠点の一つとして世界に貢献するとともに、諸外国の研究者が本研究所のリソースを活用して、蛋白質研究を推進する国際拠点としての機能も強めている。



沿革

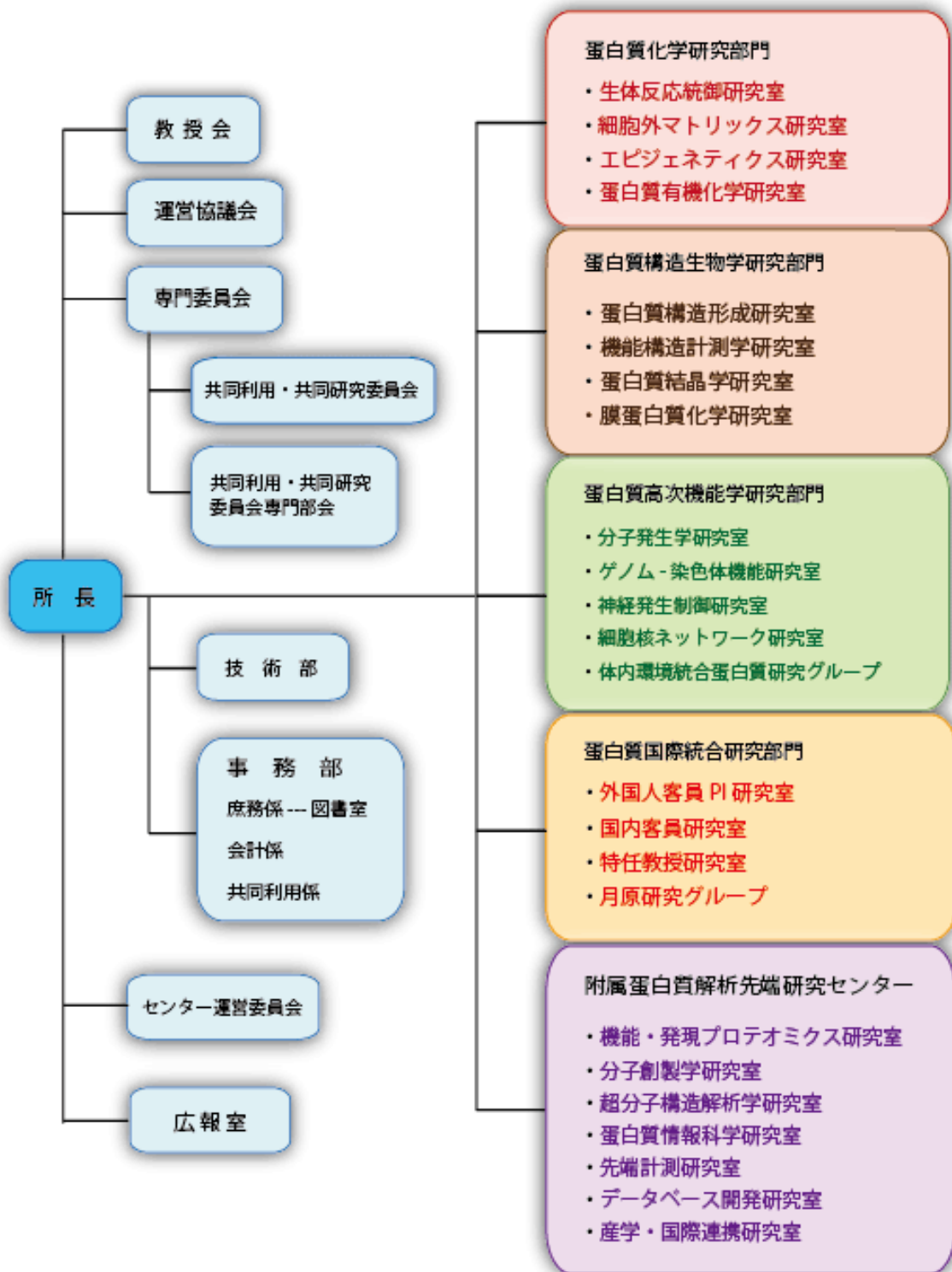
大阪大学においては、第二次大戦以前から理学部と医学部を中心として、蛋白質の研究が活発であった。戦後、蛋白質の研究は世界的に急速な進展を見せ始めた。この情勢に対応して、それまでの蛋白質研究の伝統を継承し一層発展させるために、学内に蛋白質研究の総合センターを設置する必要があるとの意見が強まった。赤堀四郎理学部教授を中心として設立計画が練られ、大阪大学は 1955 年に蛋白質研究所の設置を文部省に提案し、翌年に理学部附属施設として蛋白質研究施設の設置が認められた。時を同じくして 1956 年に、日本学術会議総会において、全国共同利用の場として蛋白質の研究施設を設立する必要があるとの決議がなされた。国立大学研究所協議会は、この種の施設を大学附置の共同利用研究所として大阪大学に設置することが適当であると結論した。

このような動向を背景として、大阪大学蛋白質研究所は、1958 年 4 月 1 日に全国共同利用研究所として発足し、赤堀四郎教授が初代所長に任命された。その後、年譜に記載の発展を経て、現在、本研究所は 4 研究部門 14 研究室と 1 センター 7 研究室からなる体制を整えるに到っている。また、2010 年 4 月から蛋白質研究共同利用・共同研究拠点としてあらためて認定され、わが国の蛋白質研究の中核として研究者コミュニティに貢献するための一層の努力を続けている。2012 年度からは、新しく蛋白質解析先端研究センターが発足している。

年 譜

- | | | | |
|------|---|------|--|
| 1956 | 理学部に「たんぱく質研究施設」設置 | 1979 | 結晶解析研究センター棟（1,505 m ² ）及び超伝導核磁気共鳴装置棟（267 m ² ）竣工 |
| 1958 | 全国共同利用「たんぱく質研究所」設置
（蛋白質有機化学研究部門、蛋白質溶液学研究部門、蛋白質代謝研究部門）
運営協議会発足 | 1988 | 蛋白質工学基礎研究センター設置（時限 10 年）
[ペプチドセンター及び結晶解析センターの廃止・転換] |
| 1959 | 酵素反応学研究部門、蛋白質物理構造研究部門の増設 | 1998 | 生体分子解析研究センター設置（時限 10 年） |
| 1960 | 蛋白質化学構造研究部門、蛋白質生理機能研究部門、蛋白質生合成研究部門の増設 | 2002 | プロテオミクス総合研究センター設置（時限 10 年）
[生体分子解析研究センターの廃止] |
| 1961 | 旧中之島キャンパスに本館（4,130 m ² ）竣工 | 2004 | 国立大学法人大阪大学附置蛋白質研究所
全国共同利用に移行 |
| 1962 | ペプチドセンター設置 | 2005 | 研究所本体の改組 4 研究部門 12 研究室体制に。
外国人研究グループの設置、生体分子認識（タカラバイオ）寄附研究部門設置 |
| 1964 | 蛋白質物性研究部門の増設 | 2006 | 疾患プロテオミクス（Shimadzu）寄附研究部門設置 |
| 1965 | 鳥井記念館内に分室（569 m ² ）を設置 | 2008 | 共同研究拠点棟（1,149 m ² ）竣工 |
| 1967 | 血液蛋白質研究部門の増設 | 2009 | 本館耐震改修工事実施 |
| 1971 | 現在の吹田キャンパスに本館（7,873 m ² ）及び機械棟（644 m ² ）竣工 | 2010 | 蛋白質研究共同利用・共同研究拠点に認定 |
| 1972 | 現在の吹田キャンパスに移転 | 2012 | 蛋白質解析先端研究センター設置（プロテオミクス総合研究センターの廃止） |
| 1977 | 蛋白質機能評価研究部門（客員）の増設 | | |
| 1977 | 血液蛋白質研究部門を蛋白質機能制御研究部門に名称変更 | | |
| 1978 | 結晶解析研究センター設置 | | |

機構



歴代所長

初代	赤堀 四郎	1958年	4月1日	～	1961年	11月30日
2代	伊勢村 寿三	1961年	12月1日	～	1965年	11月30日
3代	鈴木 友二	1965年	12月1日	～	1969年	8月14日
4代	成田 耕造	1969年	8月15日	～	1971年	8月14日
5代	角戸 正夫	1971年	8月15日	～	1982年	4月1日
6代	泉 美治	1982年	4月2日	～	1985年	3月31日
7代	佐藤 了	1985年	4月1日	～	1987年	3月31日
8代	堀尾 武一	1987年	4月1日	～	1989年	3月31日
9代	勝部 幸輝	1989年	4月1日	～	1993年	3月31日
10代	中川 八郎	1993年	4月1日	～	1995年	3月31日
11代	崎山 文夫	1995年	4月1日	～	1997年	3月31日
12代	京極 好正	1997年	4月1日	～	1999年	3月31日
13代	下西 康嗣	1999年	4月1日	～	2000年	3月31日
14代	永井 克也	2000年	4月1日	～	2004年	3月31日
15代	阿久津 秀雄	2004年	4月1日	～	2006年	3月31日
16代	月原 富武	2006年	4月1日	～	2008年	3月31日
17代	相本 三郎	2008年	4月1日	～	2010年	3月31日
18代	長谷 俊治	2010年	4月1日	～	2014年	3月31日
19代	中村 春木	2014年	4月1日	～		Present

名誉教授

泉 美治	勝部 幸輝	中川 八郎
浅野 朗	高木 俊夫	崎山 文夫
下西 康嗣	永井 克也	阿久津 秀雄
月原 富武		

運営協議会委員

2014年4月1日現在

学外委員		
教授	石川 冬木	京都大学大学院生命科学研究科
教授	片岡 徹	神戸大学大学院医学研究科
教授	中野 明彦	東京大学大学院理学系研究科
センター長	鍋島 陽一	公益財団法人先端医療振興財団先端医療センター
教授	藤吉 好則	名古屋大学大学院創薬科学研究科・細胞生理学研究所
教授	北 潔	東京大学大学院医学系研究科
教授	深見 希代子	東京薬科大学生命科学研究科
学内委員		
教授	村田 道雄	大学院理学研究科
教授	井上 豪	大学院工学研究科
教授	菊池 章	大学院医学系研究科
教授	岡田 雅人	微生物病研究所
教授	永井 健治	産業科学研究所
所内委員		
教授	中川 敦史	蛋白質研究所
教授	高尾 敏文	蛋白質研究所

教職員

所 長	教 授	理学博士	中村 春木
副 所 長	教 授 教 授	理学博士 理学博士	中川 敦史 篠原 彰
センター長	教 授	理学博士	高木 淳一

蛋白質化学研究部門

生体反応統御研究室

教 授	理学博士	長谷 俊治
准教授	理学博士	中井 正人
助 教	Ph.D.	有賀(木股)洋子

細胞外マトリックス研究室

教 授	理学博士	関口 清俊
助 教	博士(理学)	山田 雅司
技術専門職員	博士(理学)	乗岡 尚子

エピジェネティクス研究室

教 授	理学博士	田嶋 正二
准教授	博士(理学)	末武 勲
招へい准教授	博士(農学)	牧 信安
助 教	博士(理学)	木村 博信
技術職員	理学修士	阿部 直行

蛋白質有機化学研究室

教 授	理学博士	北條 裕信
准教授	博士(工学)	川上 徹
講 師(兼)	博士(理学)	佐藤 毅
助 教	博士(理学)	朝比奈 雄也

蛋白質構造生物学研究部門

蛋白質構造形成研究室

教 授	理学博士	後藤 祐児
講 師	博士(理学)	李 映昊

機能構造計測学研究室

教 授	理学博士	藤原 敏道
准教授	博士(理学)	児嶋 長次郎
助 教	博士(理学)	松木 陽
助 教(兼)	博士(薬学)	天野 まゆみ
助 教(兼)	博士(理学)	杉木 俊彦

蛋白質結晶学研究室

教 授	博士(工学)	栗栖 源嗣
准教授	博士(理学)	田中 秀明
助 教(兼)	博士(理学)	武藤 梨沙

膜蛋白質化学研究室

独立准教授	博士(農学)	三間 穰治
-------	--------	-------

蛋白質高次機能学研究部門

ゲノムー染色体機能研究室

教 授	理学博士	篠原 彰
准教授	博士(医学)	篠原 美紀

神経発生制御研究室

教 授	医学博士	吉川 和明
助 教	博士(医学)	長谷川孝一
助 教	博士(理学)	藤原一志郎

分子発生学研究室

教 授	医学博士	古川 貴久
准教授	博士(医学)	大森 義裕
助 教	博士(医学)	佐貫 理佳子
技術職員		辻井 寿典

細胞核ネットワーク研究室

独立准教授	博士(理学)	加納 純子
-------	--------	-------

体内環境統合蛋白質研究グループ

准教授	博士(理学)	奥村 宣明
-----	--------	-------

蛋白質国際統合研究部門

外国人客員 PI 研究室

客員教授	Ph.D.	Matthias RÖGNER
客員教授	Ph.D.	Thomas HAPPE

国内客員研究室

招へい教授	博士(工学)	橋本 博
招へい准教授	博士(理学)	小田 彰史

客員教授研究室

月原研究グループ		
客員教授	理学博士	月原 富武

附属蛋白質解析先端研究センター

機能・発現プロテオミクス研究室

教 授	理学博士	高尾 敏文
-----	------	-------

分子創製学研究室

教 授	理学博士	高木 淳一
准教授	博士(理学)	岩崎 憲治
助 教	博士(理学)	北郷 悠
特任助教	博士(薬学)	松永 幸子
特任助教	博士(医学)	海津 正賢
技術専門職員		川上 恵子

超分子構造解析学研究室

教 授	理学博士	中川 敦史
准教授	博士(理学)	鈴木 守
助 教	博士(薬学)	天野 まゆみ
助 教(兼)	博士(理学)	山下 栄樹
特任助教	博士(薬学)	竹下 浩平
特任助教(兼)	博士(理学)	東浦 彰史

蛋白質情報科学研究室

教 授	理学博士	中村 春木
准教授	博士(理学)	金城 玲
助 教	博士(理学)	鷹野 優
客員教授	理学博士	肥後 順一
招へい准教授	博士(農学)	川端 猛
招へい准教授	博士(工学)	神谷 成敏
招へい准教授	博士(理学)	福田 育夫
技術専門職員	理学修士	小佐田高史

先端計測研究室

教 授(兼)	理学博士	中川 敦史
教 授(兼)	理学博士	高木 淳一
教 授(兼)	理学博士	高尾 敏文
准教授(兼)	博士(理学)	岩崎 憲治
講 師	博士(理学)	佐藤 毅
助 教	博士(理学)	山下 栄樹
助 教	理学博士	三村 直稔
助 教	博士(理学)	杉木 俊彦
助 教	博士(理学)	武藤 梨沙
特任助教	博士(理学)	東浦 彰史
技術専門職員(兼)		川上 恵子
技術職員(兼)	博士(理学)	乗岡 尚子
技術職員(兼)	理学修士	阿部 直行

データベース開発研究室

教 授(兼)	理学博士	中村 春木
教 授(兼)	理学博士	藤原 敏道
教 授(兼)	理学博士	関口 清俊
准教授(兼)	博士(理学)	金城 玲
准教授(兼)	博士(理学)	児嶋長次郎
技術専門職員(兼)	理学修士	小佐田高史
特任技術専門職員		山下 鈴子

産学・国際連携研究室

客員教授		上村 みどり
------	--	--------

事 務 部

事務長		安口 一郎
庶務係	係長	伊藤栄時郎
	主任	田中 陽子
	事務職員	村田 和栄
会計係	係長	白井 隆志
	主任	中田 泰弘
	主任	村上 泰世
	事務職員	北田 ゆつき
	事務職員	中田 寛子
共同利用係	係長	松下 寿澄
	主任	栗林 貞弘
	事務職員	近藤 有紀
	事務職員	荒木 奈緒子

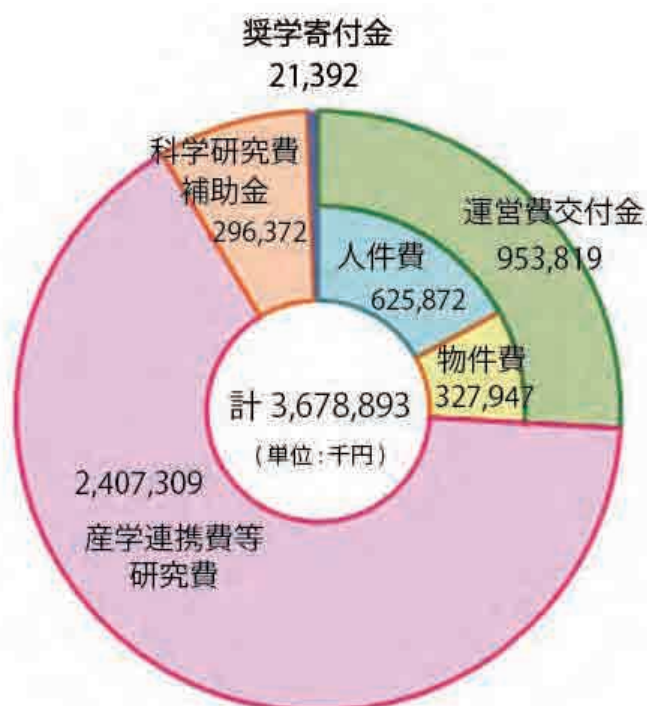
構成員／決算／教育・研究活動

構成員数

2014 年 4 月 1 日現在

教職員	教授	14 (人)	客員(招へい)教授	5 (人)
	准教授	13	客員(招へい)准教授	5
	講師	1	助教	13
	特任助教	2	事務系職員	14
	技術系職員	6	事務補佐員	23
	技術補佐員	29		
				125
研究員	外国人招へい研究員	1	博士(特任)研究員	66
	外国人博士研究員	1	特別研究員	12
	国際共同研究員	14	共同研究員	137
			(Beamline)	59
			(Regular)	68
			(NMR)	10
			計	231
学生 Student	学部生	10		
	大学院学生(博士課程)	41		
	大学院学生(修士課程)	56		
	研究生	3		
			計	110

決算 (2013 年度)



定期刊行物

1. *Memoirs of the Institute for Protein Research, Osaka University (Annual)* 年 1 回刊行
2. 蛋白質研究所レポート 年 1 回刊行

教育活動

本研究所の教員は、理学研究科、医学系研究科、生命機能研究科に所属している各専攻の大学院学生の研究指導および授業を担当している。

担当専攻

理学研究科生物科学専攻

教 授	准 教 授	講 師	助 教	特任助教
長谷 俊治	川上 徹	李 映昊	有賀(木股)洋子	東浦 彰史
関口 清俊	中井 正人	佐藤 毅	山田 雅司	
田嶋 正二	末武 勲		木村 博信	
後藤 祐児	児嶋長次郎		松木 陽	
藤原 敏道	篠原 美紀		佐貫理佳子	
栗栖 源嗣	大森 義裕		長谷川孝一	
古川 貴久	奥村 宣明		藤原一志郎	
篠原 彰	岩崎 憲治		北郷 悠	
吉川 和明	鈴木 守		山下 栄樹	
高尾 敏文	金城 玲		鷹野 優	
高木 淳一	加納 純子			
中川 敦史	三間 穰治			
中村 春木	田中 秀明			
北條 裕信				

理学研究科化学専攻

教 授	准 教 授	講 師	助 教
藤原 敏道	川上 徹	佐藤 毅	松木 陽
高尾 敏文	児嶋長次郎		鷹野 優
中村 春木	金城 玲		
北條 裕信			

理学研究科高分子科学専攻

教 授	准 教 授	講 師	助 教	特任助教
後藤 祐児	鈴木 守	李 映昊	山下 栄樹	東浦 彰史
栗栖 源嗣	田中 秀明			
中川 敦史				

医学系研究科

教 授	助 教
吉川 和明	長谷川孝一
古川 貴久	藤原一志郎

生命機能研究科

教 授
中村 春木
高木 淳一
中川 敦史
高尾 敏文

学生受入数

研究科・学部	学部	博士前期(修士)課程	博士後期課程
理学研究科・学部	7	45	29
医学系研究科	1	1	1
生命機能研究科	0	5	3

研究活動

発表業績数

2009～2013年

	2009年	2010年	2011年	2012年	2013年
原著論文	110	132	127	128	128
総説	47	23	22	27	31
学会発表	299	327	278	279	277

代表的な大型プロジェクト研究

	出資機関／プログラム名／テーマ	Grant / Program Name / Subject	研究期間 (年度)
1	(独) 科学技術振興機構／再生医療実現拠点ネットワークプログラム 幹細胞培養用基材の開発	Japan Science and Technology Agency/Research Center Network for Realization of Regenerative Medicine Feeder-free culture substrates for stem cells	2013～2017
2	(独) 科学技術振興機構、CREST 植物の環境適応を実現する過渡的超分子複合体の構造基盤	JST-CREST, Japan Science and Technology Agency Structural Studies on the transient macromolecular complexes formed upon photoacclimation	2013～2017
3	(独) 日本学術振興会、科学研究費補助金基盤研究 (A) レオウィルスの感染・増殖機構の理解を目指した原子構造と分子間ネットワークの解明	Grant-in-Aid for Scientific Research (A), Japan Society for the Promotion of Science Elucidation of the atomic structures and molecular networks for understanding of infection and multifunction mechanism of Reoviridae	2013～2015
4	文部科学省、創薬等支援技術基盤プラットフォーム解析拠点相関構造解析業務 電顕イメージングを主軸とした相関解析技術の開発と応用	Platform for Drug Discovery, Informatics, and Structural Life Science; correlative structural analysis Development and application of a correlative structural analysis by a primary use of EM	2012～2014
5	(独) 科学技術振興機構、X線自由電子レーザー重点戦略研究課題 球状構造体を利用した生体超分子複合体の構造解析法の開発	X-ray Free Electron Laser Priority Strategy Program, Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology Development of X-ray single particle analysis technique for structure determination of biological macromolecular assemblies using spherical particle	2012～2013
6	文部科学省、科学研究費補助金新学術領域研究 免疫神経インターフェースにおけるシグナル授受の構造的基盤	Grant-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas, The Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology Structural basis for the cell-cell communication at the neuro-immune interface	2012～2016

7	文部科学省、創薬等支援技術基盤プラットフォーム事業 動物細胞発現系を用いた高難度タンパク質生産支援と、糖鎖工学・抗体工学を用いたその高度化	Platform for Drug Discovery, Informatics, and Structural Life Science Project Development of highly efficient recombinant protein production pipeline using mammalian expression system	2012～2016
8	文部科学省、X線自由電子レーザー重点戦略研究課題 フレキシブルなマルチモジュール難結晶性蛋白質の解析法の確立	Strategic research program for XFEL science Structural analyses of multi-module proteins using XFEL	2012～2016
9	文部科学省、科学研究費補助金新学術領域研究 新学術領域研究高精細アプローチで迫る転写サイクル機構の統一的理解	Grant-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas, The Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology Integral Understanding of the Mechanism of Transcription Cycle through Quantitative, High-resolution Approaches	2012～2016
10	日本学術振興会、科学研究費補助金若手研究（A） 謎の巨大粒子ボルトの全立体構造決定から機能解明への道を切り開く	Grant-in-Aid for Young Scientists (A), Japan Society for the Promotion of Science, Japan Society for the Promotion of Science Elucidation of the vault function based on its whole structure	2012～2014
11	（独）科学技術振興機構、X線自由電子レーザー重点戦略研究課題 球状構造体を利用した生体超分子複合体の構造解析法の開発	X-ray Free Electron Laser Priority Strategy Program, Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology Development of X-ray single particle analysis technique for structure determination of biological macromolecular assemblies using spherical particle	2012～2013
12	文部科学省、科学研究費補助金新学術領域研究 ゲノムを支える非コードDNA領域の機能	Grant-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas, The Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology Genome-wide networks via non-coding DNA regions	2011～2015
13	（独）科学技術振興機構、統合化推進プログラム 蛋白質構造データバンクの国際的な構築と統合化	Program for coordination toward integration of related databases, Japan Science and Technology Agency Global Construction and Integration of PDB	2011～2013
14	文部科学省、科学研究費補助金新学術領域研究 新学術領域研究ゲノムアダプテーションのシステムの理解	Grant-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas, The Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology Systematic analysis of Genome adaptation	2010～2014
15	文部科学省、科学研究費補助金新学術領域研究 核輸送関連の核内複合体の構造解析と放射光測定法の改良	Grant-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas, The Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology Structure analysis of nuclear transport machinery and improvement of data collection system using synchrotron radiation	2010～2014
16	（独）日本学術振興会、最先端・次世代研究開発支援プログラム 細胞内 Mg^{2+} 制御の分子実体解明とがん悪性化シグナル	Funding Program for Next Generation World-Leading Researchers, Japan Society for the Promotion of Science Identification of the molecule regulating intracellular Mg^{2+} and its importance in cancer malignancy	2010～2013
17	（独）日本学術振興会、最先端・次世代研究開発支援プログラム 水から水素発生するラン藻モデル細胞創成に必要な光合成レドックス代謝ネットワークの完全理解	Funding Program for Next Generation World-Leading Researchers, Japan Society for the Promotion of Science Structural analysis of the entire electron transfer network of photosynthetic energy transduction for light-driven bio-hydrogen production	2010～2013
18	（独）日本学術振興会、最先端・次世代研究開発支援プログラム 流産リスク管理に向けた配偶子異数体形成過程の基礎的研究	Funding Program for Next Generation World-Leading Researchers, Japan Society for the Promotion of Science Molecular study on the formation of aneuploidy in gametes for evaluation on risk of miscarriage	2010～2013
19	（独）日本学術振興会、科学研究費補助金基盤研究（A） リポ蛋白質受容体ファミリー分子が担う発生・分化制御シグナル伝達の構造生物学的解明	Grant-in-Aid for Scientific Research (A), Japan Society for the Promotion of Science Structural analysis of lipoprotein receptor family proteins	2010～2012
20	文部科学省、ターゲットタンパク質研究プログラム ATP生産関連膜蛋白質系の構造と機能解析	Target Protein Research Project, The Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology Structural and functional analysis of ATP synthesis related membrane proteins	2010～2011

21	文部科学省、橋渡し研究支援推進プログラム 多能性幹細胞フィーダーフリー培養基材の開発	Coordination, Support and Training Program for Translational Research, The Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology Feeder-free culture substratum for human pluripotent stem cells	2009～2013
22	(独) 日本学術振興会、科学研究費補助金若手研究(S) 細胞極性制御におけるリン脂質 PIP3 輸送の役割	Grant-in-Aid for Young Scientists (S), Japan Society for the Promotion of Science Role of PIP3 Transport in Regulation of Cell Polarity	2008～2012
23	文部科学省、ターゲットタンパク研究プログラム H ⁺ -ATP 合成酵素膜内在 Fo の機能構造と不正規構造の固体 NMR による解明	Target Protein Research Project, The Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology Solid-state NMR investigation on functional and irregular structures of H ⁺ -ATP synthase Fo	2007～2011
24	文部科学省、ターゲットタンパク研究プログラム 固体 NMR 膜蛋白質複合体構造解析技術	Target Protein Research Project, The Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology Structural Analysis of Membrane Protein Complexes by Solid-State NMR	2007～2009
25	文部科学省、ターゲットタンパク研究プログラム 新規タグ技術を中心とした膜蛋白質・細胞外蛋白質の高品質生産と精製システムの開発	Target Protein Research Project, The Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology Development of “Target” tag system for the next generation structural biology	2007～2009
26	(独) 日本学術振興会、科学研究費学術創成研究 生体内代謝産物をモニターする転写調節機構の構造基盤	Grant-in-Aid for Creative Scientific Research, Japan Society for the Promotion of Science Structural basis of functional coupling between transcription and cellular metabolism	2006～2010
27	(独) 日本学術振興会、科学研究費補助金基盤研究(A) 膜蛋白質複合体コネクソンの結晶構造解析によるギャップ結合の動作機構の解明	Grant-in-Aid for Scientific Research (A), Japan Society for the Promotion of Science Crystal structure of hexameric membrane protein connexon and elucidation of gap junction structure and function	2006～2008
28	文部科学省、大学間連携研究（自然科学研究機構、岡崎統合バイオサイエンスセンターとの連携） 生命の秩序化を担う膜蛋白質の構造・機能メカニズムの解明を目指す国際フロンティア（膜蛋白質研究国際フロンティア）	Inter-University Collaborative Project (with NINS Center for Integrative Bioscience), The Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology International Frontier for Elucidation of Structure and Function of Membrane Proteins (International Frontier in Membrane Protein Research)	2005～2010
29	(独) 科学技術振興機構、戦略的国際科学技術協力推進事業 In-silico Structural Interactome Study Based on Structural Genomics	Strategic Japan-UK Cooperative Program, Japan Science and Technology Agency In-silico Structural Interactome Study Based on Structural Genomics	2005～2008
30	文部科学省、科学研究費補助金特定領域研究 生体超分子の構造形成と機能制御の原子機構	Grant-in-Aid for Scientific Research on Priority Areas, The Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology Structure, function, and structural organization of biological macromolecular assemblies	2004～2009
31	(独) 科学技術振興機構、戦略的創造研究推進事業 新しい一分子観察法の開発と折り畳み運動の測定	CREST, Japan Science and Technology Agency Development of a new observation method for the folding dynamics of proteins at the single molecule level	2004～2009
32	(独) 宇宙航空研究開発機構、国際宇宙ステーション応用利用研究拠点推進制度 高分解能結晶を利用したサブオングストロームレベルの蛋白質構造・機能解析とその応用	Japan Aerospace Exploration Agency ISS Applied Research Partnership Center for Protein Crystallization	2004～2008

分担

33	経済産業省、次世代天然物化学技術研究組合、次世代治療・診断実現のための創薬基盤技術開発 革新的 in silico シミュレーション/スクリーニングソフトウェアの開発	Technology Research Association for Next generation natural products chemistry, Project focused on developing key technology of discovering and manufacturing drug for next-generation treatment and diagnosis. Development of innovative simulation softwares for in-silico drug screening	2013～2017
----	--	--	-----------

34	(独) 科学技術振興機構、研究開発施設共用等促進費補助金 (創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業)	Platform for drug design, discovery and development, Japan Science and Technology Agency	2012~2016
	創薬等支援のためのタンパク質立体構造解析総合技術基盤プラットフォームによる支援と高度化	Development of the synchrotron beamlines dedicated to the measurement of micron-size protein crystals	
35	文部科学省、研究開発施設共用等促進費補助金 (創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業)	Platform for Drug Discovery, Informatics, and Structural Life Science	2012~2016
	創薬等支援技術基盤プラットフォーム事業		
	構造生命科学データクラウドの構築運用と高度化	Advances and Management of Data Cloud System for Structural Life Science	
36	(独) 科学技術振興機構、CREST	CREST, Japan Science and Technology Agency	2011~2016
	幹細胞における多分化能性維持の分子機構とエピゲノム構造の三次元的解析	Mechanism of pluripotency in embryonic stem cells and three dimensional analyses of epigenome structure	
37	(独) 科学技術振興機構、研究開発施設共用等促進費補助金 (創薬等支援技術基盤プラットフォーム)	Platform for drug design, discovery and development, Japan Science and Technology Agency	2011
	高難度タンパク質をターゲットとした放射光 X 線結晶構造解析技術の開発	Development of the synchrotron beamlines dedicated to the measurement of micron-size protein crystals	
38	(独) 科学技術振興機構、戦略的イノベーション創出推進事業	Strategic Innovation Program, Japan Science and Technology Agency	2010~2013
	遺伝子・細胞操作を駆使したヒト ES/iPS 細胞利用基盤技術の開発	iPS cell-based regenerative medicine	
39	先端医療振興財団、関西広域バイオメディカルクラスター構想	Biomedical Kansai Research Program, Foundation for Biomedical Research and Innovation	2010~2011
	ヒト ES 細胞利用の安全性技術確立によるパーキンソン病細胞治療の実現化	Realization of Cellular Treatment for Parkinson's disease patients	
40	(独) 日本学術振興会、科学研究費補助金基盤研究 (S)	Grant-in-Aid for Scientific Research (S), Japan Society for the Promotion of Science	2009~2013
	X 線結晶構造解析による細胞内及び細胞間での物質輸送の研究	X-ray crystallographic studies of intra- and inter-cellular transport	
41	文部科学省、ターゲットタンパク研究プログラム	Target Protein Research Project, The Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology	2007~2011
	H ⁺ -ATP 合成酵素膜内在 Fo の機能構造と不正規構造の固体 NMR による解明	Solid-state NMR investigation on functional and irregular structures of H ⁺ -ATP synthase Fo	
42	文部科学省、次世代生命体統合シミュレーション・ソフトウェアの研究開発	Research and Development of the Next-Generation Integrated Simulation of Living Matter, The Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology	2007~2012
	生体高分子生化学的機能解析のための分子計算技術の開発	Dev. of Computational software for analysis of biochemical reactions	
43	文部科学省、ターゲットタンパク研究プログラム	Target Protein Research Project, The Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology	2007~2011
	アルツハイマー病治療薬創出に向けた γ セクレターゼの構造解析と機能制御	Structural and functional analysis of gamma-secretase complex	
44	文部科学省、ターゲットタンパク研究プログラム	Target Protein Research Project, The Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology	2007~2011
	細胞接着装置構成タンパク質の構造生物学的研究	Structural studies of the cell-cell junctional proteins	
45	文部科学省、ターゲットタンパク研究プログラム	Target Protein Research Project, The Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology	2007~2011
	新規膜電位センサー蛋白群の構造と機能の解明	Structure and function of voltage-sensor domain proteins	
46	文部科学省、ターゲットタンパク研究プログラム	Target Protein Research Project, The Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology	2007~2011
	自然免疫システムにおける病原体認識に関わる分子群の構造解析	Structural analysis of molecules related to the innate immune system	
47	文部科学省、ターゲットタンパク研究プログラム	Target Protein Research Project, The Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology	2007~2011
	多剤耐性化の克服を目指した薬剤排出トランスポート・マシーナリーの構造生物学	Structural biology on efflux transport machineries to understand multi-drug resistance	
48	文部科学省、ターゲットタンパク研究プログラム	Target Protein Research Project, The Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology	2007~2011
	高難度タンパク質をターゲットとした放射光 X 線結晶構造解析技術の開発	Development of the synchrotron beamlines dedicated to the measurement of micron-size protein crystals	

49	文部科学省、ターゲットタンパク研究プログラム ターゲットタンパク研究情報プラットフォームの構築運用	Target Protein Research Project, The Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology Target Protein Research, Construction and Management of Information Platform	2007～2011
50	文部科学省、ターゲットタンパク研究プログラム セマフォリン及びセマフォリン受容体分子群をターゲットにした構造・機能解析と治療法開発	Target Protein Research Project, The Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology Structural analysis of semaphorins and their receptors	2007～2009
51	(独) 科学技術振興機構、戦略的創造研究推進事業 細胞内標識による生物分子トモグラフィー	CREST, Japan Science and Technology Agency Biomolecular Tomography with Molecular Labels in the Cell	2006～2011
52	(独) 新エネルギー・産業技術総合開発機構 (NEDO 技術開発機構) 研究用モデル細胞の創製技術開発: 分子構成を最適化した人工基底膜による ES 細胞の分化誘導制御技術の開発	New Energy and Industrial Technology Development Organization Development of Technology to Create Research Model Cells: Development of Technology for Selective Induction of ES Cell Differentiation by Artificial Basement Membranes with Customized Molecular Composition	2006～2009
53	文部科学省、科学研究費補助金特定領域研究 細胞の運命と挙動を支配する細胞外環境のダイナミズム	Grant-in-Aid for Scientific Research on Priority Areas, The Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology Dynamics of extracellular environments	2005～2009
54	(独) 科学技術振興機構、戦略的基礎研究 タンパク質のナノダイナミクス高速撮影装置の開発	CREST, Japan Science and Technology Agency Development of a novel high-speed imaging system to visualize protein nano-dynamics	2005～2009
55	(独) 科学技術振興機構、バイオインフォマティクス推進事業 実践による超分子複合体モデリングシステムの開発	BIRD, Bioinformatics Research and Development, Japan Science and Technology Agency Development of a practical macromolecular complex modeling system	2005～2008
56	(独) 科学技術振興機構、戦略的創造研究推進事業 周辺蛋白質の電子伝達系への影響を記述するための分子力場法計算プログラムの開発	CREST, Japan Science and Technology Agency Development of MM program for describing the effect of proteins surrounding the electron transfer system	2005～2008
57	(独) 科学技術振興機構、戦略的創造研究推進事業 低分解能生体超分子像からの原子構造構築技法	CREST, Japan Science and Technology Agency A Method to Deduce Atomic Resolution Structures out of Low Resolution Supramolecule Images in Biological Systems	2004～2008

代表的な受託研究

	出資機関／プログラム名／テーマ	Grant / Program Name / Subject	研究期間 (年度)
1	文部科学省、先端研究基盤共用・プラットフォーム形成事業 先端核磁気共鳴装置群の産業利用支援プログラム	Shared use of advanced research facilities and their platform formation (MEXT) Promotion of industrial use of advanced NMR facilities	2013～2015
2	文部科学省、創薬等支援技術基盤プラットフォーム解析拠点関連構造解析業務 電顕イメージングを主軸とした相関解析技術の開発と応用	Platform for Drug Discovery, Informatics, and Structural Life Science: correlative structural analysis Development and application of a correlative structural analysis by a primary use of EM	2012～2014
3	(株) 日本触媒 新規ペプチド合成法の開発	Nippon Syokubai Development of a new method for peptide synthesis	2013
4	文部科学省、創薬等支援技術基盤プラットフォーム 最先端 NMR 構造解析に向けた蛋白質試料評価調製システムの高度化と外部支援	Platform for drug design, discovery and development, The Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology Development and supports for protein sample preparation and evaluation systems toward advanced NMR structural analysis	2012～2016
5	(独) 科学技術振興機構・さがけ 構造から迫る細胞内輸送マシナリー	PRESTO, Japan Science and Technology Agency Structural elucidation of the intracellular transport machinery	2012～2014

6	(財) 日本宇宙フォーラム 宇宙環境を利用した高品質タンパク質結晶生成(第6回実験)と精密立体構造の解析	Japan Space Forum Production of high quality protein crystals in space environment and high precision structure analysis	2012～2013
7	(独) 科学技術振興機構、戦略的創造研究推進事業 ALCA (先端的低炭素化技術開発) 珪藻のフィジオロミクスに基づく褐色のエネルギー革命	Strategic Basic Research Programs (Advanced Low Carbon Technology Research and Development Program), Japan Science and Technology Agency Generation of diatom factory through physiologics toward a novel energy source	2011～2016
8	(独) 科学技術振興機構 「次世代がん研究戦略推進プロジェクト」	Japan Science and Technology Agency Promotion Project, the next generation cancer research strategy	2011～2015
9	(独) 科学技術振興機構、統合化推進プログラム 蛋白質構造データバンクの国際的な構築と統合化	Program for coordination toward integration of related databases, Japan Science and Technology Agency Global Construction and Integration of PDB	2011～2013
10	(財) 日本宇宙フォーラム 宇宙環境を利用した高品質タンパク質結晶生成(第5回実験)と精密立体構造の解析	Japan Space Forum Production of high quality protein crystals in space environment and high precision structure analysis	2011～2012
11	(独) 新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO) ヒト幹細胞実用化に向けた評価基盤技術の開発	New Energy and Industrial Technology Development Organization Validation and standardization of human pluripotent stem cells	2010～2015
12	(独) 科学技術振興機構・さがけ 複合体解析による光合成エネルギー変換の完全理解	PRESTO, Japan Science and Technology Agency Structural analysis of the electron transfer complexes for understanding entirely the photosynthetic energy transduction	2010～2014
13	(独) 新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO) 次世代機能代替技術の研究開発	New Energy and Industrial Technology Development Organization Development of cell-free devices for regenerative medicine	2010～2015
14	(独) 科学技術振興機構・さがけ 繊毛が神経回路形成・維持・機能発現に果たす役割とその分子メカニズム	PRESTO, Japan Science and Technology Agency Role of neuronal cilia in development and function of the central nervous system	2010～2013
15	近畿経済産業局、平成 22-24 年度地域イノベーション創出研究開発事業 疾患に関わる蛋白質異常凝集体の高速誘導検出装置の研究開発	METI KANSAI (Kansai Bureau of Economy, Trade and Industry), Regional Innovation Creation R & D Program Research and Development of Rapid Detection System for Protein Aberrant Aggregations Associated with Diseases	2010～2012
16	文部科学省、先端研究施設共用促進事業 先端核磁気共鳴装置群の産業利用支援プログラム	Promotion of shared use of advanced research facilities (MEXT) Promotion of industrial use of advanced NMR facilities	2010～2011
17	(独) 科学技術振興機構、CREST 網膜神経回路のシナプス形成と生理機能発現の解析	CREST, Japan Science and Technology Agency Analysis of the synapse formation and the functional networks in the vertebrate retina	2009～2014
18	(独) 科学技術振興機構・さがけ 生体粒子 vault の立体構造情報を基盤とした新規 DDS の戦略的開発	PRESTO, Japan Science and Technology Agency Development of structure-based Drug Delivery System (DDS) using vault particles.	2009～2012
19	(独) 宇宙航空研究開発機構 宇宙環境を利用した高品質タンパク質結晶生成と精密立体構造の解析	Japan Aerospace Exploration Agency (JAXA) Production of high quality protein crystals in space environment and high precision structure analysis	2009

企業等との代表的な共同研究

	相手方機関／テーマ	Company / Subject	研究期間 (年度)
1	経済産業省、次世代天然物化学技術研究組合、次世代治療・診断実現のための創薬基盤技術開発 革新的 in silico シミュレーション／スクリーニングソフトウェアの開発	Technology Research Association for Next generation natural products chemistry, Project focused on developing key technology of discovering and manufacturing drug for next-generation treatment and diagnosis. Development of innovative simulation softwares for in-silico drug screening	2013～2017

2	(独) 宇宙航空研究開発機構 巨大蛋白質複合体の高分解能結晶を得るための技術開発及び電位センサーの動作原理の解明に向けた宇宙環境を利用した高品質タンパク質結晶生成(第2回実験)と精密立体構造の解析	Japan Aerospace Exploration Agency(JAXA) Production of high quality protein crystals in space environment (PCG#2-2) and high precision structure analysis	2013-2015
3	(独) 宇宙航空研究開発機構 巨大蛋白質複合体の高分解能結晶を得るための技術開発及び電位センサーの動作原理の解明に向けた宇宙環境を利用した高品質タンパク質結晶生成(第1回実験)と精密立体構造の解析	Japan Aerospace Exploration Agency(JAXA) Production of high quality protein crystals in space environment (PCG#2-1) and high precision structure analysis	2013-2014
4	(独) 宇宙航空研究開発機構 宇宙環境を利用した高品質タンパク質結晶生成(第6回実験)と精密立体構造の解析	Japan Aerospace Exploration Agency (JAXA) Production of high quality protein crystals in space environment (NGCF#6) and high precision structure analysis	2013
5	アステラス製薬株式会社 抗体創薬基盤技術としての合理的抗体設計手法の開発	Astellas Pharma Inc. Development of rational design technology of antibodies for basis of antibody medicine	2012～2014
6	インタープロテイン株式会社 蛋白質・蛋白質相互作用を阻害する画期的な低分子有機化合物の開発	Interprotein Corporation Drug discovery research of small molecule protein-protein interaction (PPI) inhibitors	2012～2013
7	味の素(株) アミノ酸晶析発酵におけるバクテリアへの結晶による機械的ストレス解析	Ajinomoto Co., Inc. Analysis of mechanical stress of E. coli cells during amino acid crystal fermentation	2012～2013
8	(株) パナソニック 蛋白質間相互作用構造予測技術に関する研究	Panasonic Corporation Research on structural prediction for protein-protein interaction	2012
9	(株) エーザイ 薬物代謝酵素チトクローム P450 脂質膜中構造	Eisai Co.,Ltd Structure of drug-metabolizing enzyme cytochrome P450 in lipid bilayers	2011～2014
10	(株) ファーマーズ 卵黄加水分解物中に含まれる生理活性物質の探索	Pharma Foods International Co., Ltd. Eisai Co.,Ltd	2011～2014
11	(株) 島津製作所 蛋白質の分子解析技術の開発	Shimadzu Corporation Development of methodology for protein structural analysis	2011～2012
12	(独) 宇宙航空研究開発機構 宇宙環境を利用した高品質タンパク質結晶生成(第5回実験)と精密立体構造の解析	Japan Aerospace Exploration Agency (JAXA) Production of high quality protein crystals in space environment and high precision structure analysis	2011～2012
13	(株) 小野薬品工業 FATT タグを用いた大腸菌による組み換え蛋白質の生産	Ono Pharmaceutical Co.,Ltd. Recombinant protein production using FATT tag system	2011～2012
14	(株) 積水メディカル Intact LR11 蛋白質に特異的な抗体作製に関する研究	Sekisui Medical Co.,Ltd. Production of monoclonal antibody against native LR11	2011～2012
15	(株) パナソニック 蛋白質間相互作用構造予測技術に関する研究	Panasonic Corporation Research on structural prediction for protein-protein interaction	2011
16	(社) バイオ産業情報化コンソーシアム 高精度 in silico スクリーニング等シミュレーション技術の開発	Japan Biological Informatics Consortium Development of basic technology for precise in-silico drug screening	2011
17	インタープロテイン株式会社 機能解析、構造解析に基づく低分子性制御医薬の創製	Interprotein Corporation Discovery research of small molecule medicines based on the analysis of protein function and structure	2011
18	プロテインウエーブ株式会社 蛋白質の発現系の構築および高効率大量発現に関する研究	Protein Wave Corporation Studies on expression system construction and high efficiency large scale expression in some target proteins	2011
19	(株) マンダム 表皮幹細胞の同定方法の確立	Mandam Corporation Identification of epidermal stem cells	2010～2014
20	(株) 第一三共 RD アソシエ FATT タグを用いた大腸菌による組み換え蛋白質の生産	Daiichi Sankyo RD Associe Co., Ltd Recombinant protein production using FATT tag system	2010～2011

21	日本臓器製薬（株） G 蛋白質共役型受容体 (GPCR) モデルによるパーティ シャルスクリーニングと構造最適化のための方法論 の開発	Nippon Zoki Pharmaceutical Co., Ltd. Development of new Methods in virtual screening and structure optimization for G-protein coupled receptor (GPCR) models	2010～2011
22	(独) 科学技術振興機構、(独) 理化学研究所 NMR データベースに関する共同研究	JST (Japan Science and Technology Agency), Riken Development of NMR database	2010
23	(独) 宇宙航空研究開発機構 宇宙環境を利用した高品質タンパク質結晶生成 (第 3 回実験) と精密立体構造の解析	Japan Aerospace Exploration Agency (JAXA) Production of high quality protein crystals in space environment (NGCF#3) and high precision structure analysis	2010
24	シスメックス（株） 英国 Malvern 社製「ゼータサイザーナノ」を用いた タンパク質結晶化モニタリング計測技術の開発に 関する共同研究	Sysmex Corporation Development protein crystallization monitoring technique using Malvern Instruments' Zetasizer Nano particle characterization system	2010
25	(財) 交流協会 膜近傍で働くタンパク質・酵素群の静的及び動的構 造解析	Interchange Association, Japan Structure and dynamic investigation of interfacial enzyme	2010
26	(株) アステラス 抗体創薬基盤技術としての合理的抗体設計手法の 開発	Astellas Pharma Inc. Development of rational design technology of antibodies for basis of antibody medicine	2009～2011
27	(株) パナソニック 蛋白質間相互作用構造予測技術に関する研究	Panasonic Corporation Research on structural prediction for protein-protein interaction	2009～2010
28	(株) インタープロテイン 機能解析、構造解析に基づく低分子性制御医薬の創 製	Interprotein Corporation Discovery research of small molecule medicines based on the analysis of protein function and structure	2009
29	(独) 宇宙航空研究開発機構 宇宙環境を利用した高品質タンパク質結晶生成と 精密立体構造の解析	Japan Aerospace Exploration Agency (JAXA) Production of high quality protein crystals in space environment and high precision structure analysis	2009
30	味の素(株)、イノベーション研究所 トランスグルタミナーゼの構造と機能	Institute for Innovation, Ajinomoto Co., Inc. Structure and function of a transglutaminase from Streptomyces mobaraensis	2008～2011
31	(株) 日本医学臨床検査研究所 LRP6 モノクローナル抗体の開発	Japan Clinical Laboratories, Inc. Development of monoclonal antibodies against human LRP6	2008～2010
32	(独) 科学技術振興機構、(独) 理化学研究所 NMR データベースに関する共同研究	JST (Japan Science and Technology Agency), Riken Development of NMR database	2008～2009
33	(株) セラバリュース プロテオミクスによるバイオマーカー探索	Theravalues Inc. Biomarker Discovery by Proteomics	2008～2009
34	(財) 日本皮革研究所 分子構成を最適化した人工基底膜の再構築技術の 開発	Japan Institute of Leather Research Development of technology for reconstitution of artificial basement membranes with customized molecular composition	2007～2009
35	アステラス製薬（株） Antibody Informatics による抗体医薬品創製手法 の開発	Astellas Pharma Inc. Development of a new methodology for antibody medicine by antibody informatics	2006～2008
36	シスメックス（株） 英国 Malvern 社製「ゼータサイザーナノ」を用いた タンパク質結晶化モニタリング計測技術の開発に 関する共同研究	Sysmex Corporation Development protein crystallization monitoring technique using Malvern Instruments' Zetasizer Nano particle characterization system	2005～2009
37	(株) 日立ハイテクノロジーズ 新規 LC/MS ⁿ システムによるプロテオミクス	Hitachi High-Technologies Corporation Proteomics by a LC/MS ⁿ system	2005～2009
38	(株) 島津製作所 NBS 法による蛋白質プロファイリング解析	Shimadzu Corporation Protein profiling analysis using the NBS method	2005～2008
39	インターサイト・ナノサイエンス（株） 機能解析、構造解析に基づく低分子性制御医薬の創 製	Inter Cyto Nano Science Co. Ltd. Creation of low molecular medicine based on the analysis of biological function and structure of target protein	2005～2008

特筆すべき研究活動

	プログラム名／テーマ	Program Name/Subject	研究期間 (年度)
1	日本蛋白質構造データバンク： PDBj (PDB japan) の運用	Management of Protein Data Bank Japan (PDBj)	2001～2013

共同利用・共同研究拠点／国際交流

本研究所は、共同利用・共同研究拠点としての使命を果たすために次のような事業を実施している。

共同研究員/国際共同研究

大学・高等教育機関の教員、国公立研究機関の研究員などで、本研究所で実施されている研究に参加を希望する者、自己の研究をさらに発展させることを希望する者、蛋白質研究のための基礎技術の習得を希望する者を公募により共同研究員として受入れ、本研究所で共同研究を行っている。共同研究員は、審査結果に応じて、研究費、旅費及び滞在費が支給され、共同研究員のための宿泊施設を利用することができる。

この共同研究員制度は 1959 年度から実施しており、2013 年度までに総計 2,061 名の研究者がこの制度によって本研究所で研究に従事した。兵庫県佐用郡佐用町にある大型放射光施設に附設した本研究所の生体超分子複合体構造解析ビームラインの利用や、800MHz および 950MHz の超高磁場 NMR の利用の一部にも、この共同研究員制度を適用している。

さらに 2005 年度から、国際共同研究を広く海外へ公募し、本研究所の PI との共同研究を実施する研究者や、本研究所の大型研究施設を利用する研究者を募り、これまでに、米国、英国、スウェーデン、スペイン、ニュージーランド、ハンガリー、ポーランド、バングラディッシュ、インド、台湾、中国、韓国、フランス、ロシア、キューバ、ドイツ、マレーシア、インドネシア、オランダ、シンガポール、ベトナム、イタリアの研究者と国際共同研究を推進している。2013 年度には、11 ヶ国（韓国、マレーシア、ベトナム、中国、英国、イタリア、米国、エジプト、インドネシア、台湾、インド、）から 13 名の海外の研究者が、国際共同研究を実施するため来所した。このように、共同利用・共同研究拠点としてさらに広く国内外の研究者との共同研究を進めている。

共同研究員数

	一般		ビームライン		超高磁場 NMR 装置	
年度	人数	延研究月	人数	課題	人数	課題
平成 12 (2000)	29	28	15	18		
平成 13 (2001)	31	55	21	30		
平成 14 (2002)	24	20	27	35		
平成 15 (2003)	25	21	43	52		
平成 16 (2004)	33	27	24	33		
平成 17 (2005)	29	24	29	37		
平成 18 (2006)	29	18	37	45		
平成 19 (2007)	33	20	35	45		
平成 20 (2008)	38	25	39	48		
平成 21 (2009)	44	30	44	51		
平成 22 (2010)	57	21	48	53	15	15
平成 23 (2011)	51	35	48	52	15	15
平成 24 (2012)	59	20	52	59	12	12
平成 25 (2013)	69	22	58	63	14	14

国際共同研究数

年度	人数	延研究日
平成 17 (2005)	6	305
平成 18 (2006)	8	213
平成 19 (2007)	4	44
平成 20 (2008)	6	140
平成 21 (2009)	8	252
平成 22 (2010)	9	152
平成 23 (2011)	9	431
平成 24 (2012)	15	323
平成 25 (2013)	13	224

蛋白質研究所セミナー

蛋白質及びそれに関連する生命科学の領域における重要なトピックについての公開セミナーを開催している。このセミナーが発足した 1959 年度には 3 つのセミナーが開催され、演者は 19 名にすぎなかったが、2013 年度には次の 15 のセミナーが開かれ、演者の数は延 232 名であった。

2013 年度に実施した蛋白質研究所セミナー

	テーマ/世話人	Title / Organizer	開催日
1	光の、光による、光のための蛋白質科学 須藤 雄気(名古屋大学)、永井 健治(大阪大学)、石北 央(京都大学)、児嶋 長次郎(大阪大学・蛋白研)	Protein research of the light, by the light, for the light Yuki SUDO (Nagoya Univ.), Takeharu NAGAI (Osaka University), Hiroshi ISHIKITA (Kyoto Univ.), Chojiro KOJIMA (IPR, Osaka University)	2013 年 4 月 20-21 日
2	生体超分子構造解析ビームラインワーク ショップ 1 中川 敦史(大阪大学・蛋白研)	Workshop on the Beamline for Biological Macromolecule Assemblies Atsushi NAKAGAWA (IPR, Osaka Univ.)	2013 年 5 月 13-16 日
3	フォールディングとミスフォールディング研究の新展開 後藤 祐児(大阪大学・蛋白研)、李 映昊(大阪大学・蛋白研)、茶谷 絵理(神戸大学)	Exploring the New Horizons of Protein Folding and Misfolding Studies Yuji GOTO (IPR, Osaka Univ.), Lee Young-Ho (IPR, Osaka Univ.), Eri CHATANI (Kobe Univ.)	2013 年 6 月 19-20 日
4	世界をリードする NMR とその科学技術・社会へのインパクト 藤原 敏道(大阪大学・蛋白研)、児嶋 長次郎(大阪大学・蛋白研)	World's leading NMR and its impact on science, technology and society Toshimichi FUJIWARA (IPR, Osaka University), Chojiro KOJIMA (IPR, Osaka University)	2013 年 8 月 5-6 日
5	DNA メチル化の制御機構—メチル化模様形成、維持と消去— 田嶋 正二(大阪大学・蛋白研)、末武 勲(大阪大学・蛋白研)	Regulation of DNA methylation - establishment, maintenance, and erasure - Shoji TAJIMA (IPR, Osaka Univ.), Isao SUETAKE (IPR, Osaka Univ.)	2013 年 11 月 1-2 日
6	拡がる質量分析の世界 高尾 敏文(大阪大学・蛋白研)	Growing Mass Spectrometry World Toshifumi TAKAO (IPR, Osaka Univ.)	2013 年 11 月 15 日
7	第 4 回 神経科学と構造生物学の融合研究会 貝淵 弘三(名古屋大学)、中川 敦史(大阪大学・蛋白研)、高木 淳一(大阪大学・蛋白研)	The Fourth joint seminar on neuroscience and structural biology Kozo KAIBUCHI (Nagoya Univ.), Atsushi NAKAGAWA (IPR, Osaka Univ.), Junichi TAKAGI (Nagoya Univ.)	2013 年 11 月 19-20 日

8	細胞が集団になって初めて発現する機能	Communication, competition, and concerted functions of cells in tissues	2013 年 11 月 28 日
	松野 健治（大阪大学）、 高木 淳一（大阪大学・蛋白研）	Kenji MATSUNO (Osaka Univ.), Junichi TAKAGI (IPR, Osaka Univ.)	
9	量子ビームの連携利用に向けた新しいタンパク質結晶学	New Generation of Protein Crystallography Toward Collaborative Utilization of Quantum Beam	2013 年 12 月 17-18 日
	中川 敦史（大阪大学・蛋白研）、三木 邦夫（京都大学）、 竹田 一旗（京都大学）	Atsushi NAKAGAWA (IPR, Osaka Univ.), Kunio MIKI (Kyoto Univ.), Kazuki TAKEDA (Kyoto Univ.)	
10	Antibody Design, Modeling and Applications	Antibody Design, Modeling and Applications	2014 年 1 月 14-15 日
	中村 春木（大阪大学・蛋白研）、白井 宏樹	Haruki NAKAMURA (IPR, Osaka Univ.), Hiroki Shirai (Astellas Pharma Inc.)	
11	蛋白質の機能デザインに向けた実験と理論のインタープレー	An Interplay of experiment and theory towards functional design of proteins	2014 年 1 月 24 日
	鷹野 優（大阪大学・蛋白研）、重田 育照（大阪大学）	Yu TAKANO (IPR, Osaka Univ.), Yasuteru SHIGETA (Osaka Univ.)	
12	結晶構造を併用したハイブリッド構造研究の最前線	Front line of the hybrid method for X-ray crystallography in structural	2014 年 2 月 7-8 日
	栗栖 源嗣（大阪大学・蛋白研）	Genji KURISU (IPR, Osaka Univ.)	
13	オートファジーと疾患	Autophagy and Diseases	2014 年 20-21 日
	内山 安男（順天堂大学）、 吉川 和明（大阪大学・蛋白研）	Yasuo UCHIYAMA (Juntendo Univ.), Kazuaki YOSHIKAWA (IPR, Osaka Univ.)	
14	キナーゼ・シグナリング研究の進展	Trends in research on kinase-signaling	2014 年 3 月 14-15 日
	篠原 彰（大阪大学・蛋白研）	Akira SHINOHARA (IPR, Osaka Univ.)	
15	多能性幹細胞研究の最前線 ～培養技術から解析技術まで～	Frontiers in Pluripotent Stem Cell Research: Innovation in Stem Cell Culture and Analysis	2014 年 3 月 28 日
	中川 誠人（京都大学）、 関口 清俊（大阪大学・蛋白研）	Masato NAKAGAWA (Kyoto Univ.) Kiyotoshi SEKIGUCHI (IPR, Osaka Univ.)	

国際交流

本研究所では、外国人研究員（大阪大学外国人研究員制度）、外国人招へい研究者・外国人特別研究員（日本学術振興会）、ならびにその他の資金による外国人研究者を積極的に招へいし、国際交流につとめている。1960 年代初めから、のべ 30 以上の国と地域から合計 200 名を越える研究者が数ヶ月から 1 年間にわたって本研究所に滞在して共同研究を行っている。2005 年度から、外国人研究員制度に加えて、新たに研究所独自の国際共同研究制度を設け、本研究所あるいは大型放射光施設 SPring-8 に滞在して、本研究所が設置した施設を利用した国際共同研究を推進している。大学院生の国際交流プログラムへも積極的に協力しており、大阪大学交換留学プログラム制度（FrontierLab@OsakaU）を通じて、毎年 2 名程度の大学院生を受け入れている。このほか外国人来訪者の数も極めて多く、セミナーや講演会等も頻繁に開催している。さらに、国際的に協力して研究活動を活発に行うため、以下の部局間学術交流協定を結び、研究者の交流や国際シンポジウム及びワークショップを開催している。

北京大学物理化学研究所（中国 1980 年）、国立遺伝子・生物工学センター（キューバ 2003 年）
マンチェスター大学生物科学部（英国 2004 年）、国立放射光科学研究センター（台湾 2007 年）
国立化学生物学研究所（インド 2009 年）、ソウル大学校薬学部（韓国 2009 年）

現在継続中の代表的な国際的共同研究

	国/相手方機関/代表者/テーマ	Representative/Institution/Country/Project Title (英)
1	フランス・国立農業研究所 スズキ アキラ 研究員 ・植物のアミノ酸合成系の分子生理学	Dr. Akira Suzuki, INRA, Versailles, France ・Molecular physiology of plant amino acid synthesis
2	ドイツ・オスナブルグ大学 ガイ・ハンケ助教授 ・葉緑体のレドックス代謝の制御機構	Dr. Guy T. Hanke, Osnaburg University, Germany ・Redulation of redox metabolisms in chloroplast
3	米国・カリフォルニア大学デービス校 ジョン・ピータース教授 ・フィブロネクチン EDA 領域の病態マーカーとしての意義	Prof. John Peters, University of California Davis, USA ・EDA extra domain of fibronectin as a marker of vascular injury
4	英国・デモンフォルト大学 ハリス博士 ・膜蛋白質の合成と機能解析研究	Dr. Parvez Haris, De Montfort University, UK ・Synthesis and structural study of membrane proteins
5	インド・ケミカルバイオロジー研究所 スラジット・ゴシュ博士 ・リポソーム上に膜タンパク質を一方向で存在する技術の開発	Dr. Ghosh, Surajit, Chemistry Division, Indian Institute of Chemical Biology, Kolkata, India ・Unidirectional insertion of transmembrane protein Glycophorin A into liposome
6	ハンガリー・エトバス ローランド大学 ジョセフ・カルドス教授、 ・蛋白質異常凝集とアミロイド形成の機構解明	Prof. Jozsef Kardos, Etovos Lorand University, Hungary ・Understanding the mechanism of protein aberrant aggregation and amyloid formation
7	イタリア・ウディネ大学、 ジェンナーロ・エスポジト教授 ・ β 2ミクログロブリンのアミロイド線維形成	Prof. Gennaro Esposito, University of Udine, Italy ・Amyloid fibril formation of β 2-microglobulin
8	ドイツ・ルール大学ボーフム校 トーマス・ハッペ教授 ・緑藻由来ヒドロゲナーゼの構造解析	Prof. Thomas Happe, Ruhr University Bochum, Germany ・X-ray structural analysis of [FeFe]-hydrogenase from green alga
9	ドイツ・ルール大学ボーフム校 マティアス・レグナー教授 ・好熱性シアノバクテリアが持つ Complex I の構造解析	Prof. Matthias Rögner, Ruhr University Bochum, Germany ・Crystallization of NDH1 from Thermophilic cyanobacterium
10	米国・カリフォルニア大学デービス校 ニール・ハンター教授 ・減数分裂期組換えの解析	Prof. Neil Hunter, University of California Davis, USA ・Study on mechanisms of meiotic recombination
11	米国・カリフォルニア大学デービス校 ウオルフ・ハイヤー教授 ・Rad51 メデエーターの分子機能解析	Prof. Wolf Heyer, University of California Davis, USA ・Molecular mechanism of action of Rad51 Mediators
12	米国・ニューヨーク医科大学 プラヴィーン・バラブ教授 ・ヒト胎児脳の神経発生機構	Prof. Praveen Ballabh, New York Medical College, USA ・Mechanisms of neurogenesis in human fetal brain
13	中国・復旦大学 ゼンガン・ヤン教授 ・大脳皮質介在ニューロン発生の分子機構	Prof. Zhengang Yang, Fudan University, China ・Molecular mechanism of cortical interneuron development
14	米国 Case Western Reserve 大学 マサイアス・バック教授 ・プレキシンのシグナル伝達機構に関する研究	Dr. Matthias Buck, Case Western University, USA. ・Signaling mechanism of the plexin receptors.
15	オランダ国立がん研究所 アーノウド・ソネンバーク教授 ・インテグリン抗体の組み換え生産に関する研究	Prof. Arnoud Sonnenberg, Netherlands Cancer Institute. ・Recombinant production of anti-integrin antibodies.
16	台湾・国立放射光科学研究センター、チャン・シーリン 所長 ・放射光を利用した構造生物学研究	Director, Prof. Shih-Lin Chang, Taiwan ・Structure biology research using synchrotron radiation

17	台湾・国立成功大学、チェン チュンジュン教授 ・緑膿菌における2成分制御系に關与する蛋白質と その複合体の結晶構造解析	Prof. Chun-Jung Chen, National Cheng Kung University ・Crystal structures of key proteins and complexes involved in two-component regulatory systems in <i>Pseudomonas aeruginosa</i> for the regulatory mechanism
18	スウェーデン・ウプサラ大学、ヤノシュ・ハイジュ 教授 ・ウイルス粒子のコヒーレントX線イメージング方 に關する研究	Prof. Janos Hajdu, Uppsala University, Sweden ・Studies of coherent X-ray imaging for virus particles

蛋 白 質 化 学 研 究 部 門

生体反応統御研究室

教授 長谷 俊治
准教授 中井 正人
助教 有賀(木股) 洋子



連絡先 Tel: 06-6879-8611; Fax: 06-6879-8613; E-mail: enzyme@protein.osaka-u.ac.jp

植物細胞のプラスチドは、葉緑体の光合成機能をはじめとして様々な生理機能を営むオルガネラであり、プラスチド内の特定の区画に配置された可溶性や膜結合性の酵素・蛋白質が、このオルガネラの機能を司っている。本研究室では、葉緑体を中心としたプラスチドの生合成と機能発現を研究の柱とし、高等植物やラン藻を用いて生化学的、遺伝学的、細胞生物学的な手法で以下の研究を展開している。課題の第一として、葉緑体での光還元力及び非光合成プラスチドでの基質レベルの還元力が、炭素、窒素、硫黄の同化系に供給される仕組みを、電子キャリアー蛋白質であるフェレドキシンとそのパートナーとして機能する酸化還元酵素群との蛋白質分子間の電子の伝達・分配の機構を研究している。第二は、葉緑体に代表されるオルガネラである色素体のバイオジェネシスに関して、葉緑体蛋白質の輸送と局在化、膜透過機構に注目して研究している。特に最近サイエンス誌に発表した葉緑体包膜の新奇な蛋白質輸送装置複合体の全解明に迫りたい。第三は、マラリア原虫細胞のアピコプラストに存在するフェレドキシンとその還元酵素を要とするレドックス代謝系の成り立ちをプロテオミクス的手法で研究している。

【研究課題】

- 1) 光合成及び非光合成プラスチド代謝過程の電子分配機構
- 2) フェレドキシン依存性酵素群の反応機構
- 3) 葉緑体形成の分子機構
- 4) 葉緑体包膜の蛋白質膜透過装置の構造・機能解析
- 5) マラリア原虫アピコプラストのレドックス反応機構

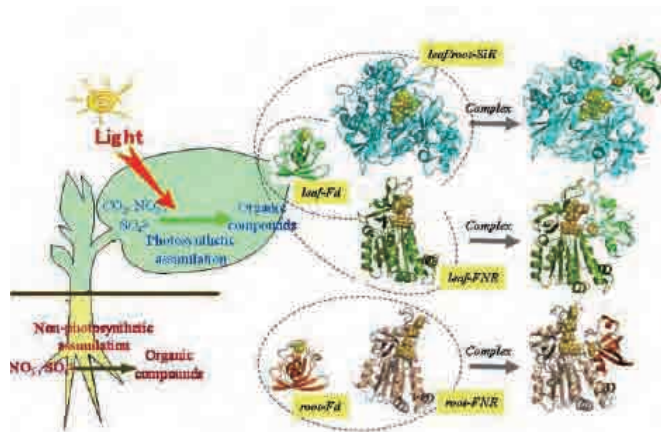


図1. 葉緑体と根プラスチドのフェレドキシンとフェレドキシン依存性酵素群の電子伝達複合体。

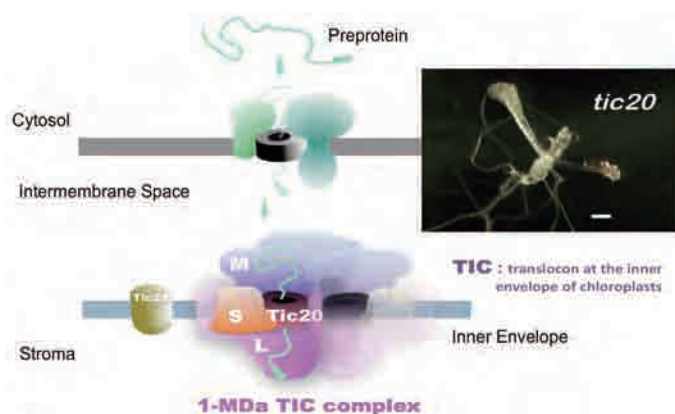


図2. 葉緑体に内包膜に発見された新奇1メガダルトンの蛋白質膜透過装置。

【文献】

1. Unconverging the Protein Translocon at the Chloroplast Inner Envelope Membrane. Kikuchi S, Nakai M, et al. (2013) *Science* **339**, 571-574.
2. Concentration-dependent oligomerization of cross-linked complexes between ferredoxin and ferredoxin-NADP⁺ reductase. Kimata-Arigo Y, Kubota-Kawai H, Lee Y-H, Muraki N, Ikegami T, Kurisu G, Hase T. (2013) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **434**, 867-872.
3. N-terminal structure of maize ferredoxin:NADP⁺ reductase determines recruitment into different thylakoid membrane complexes. Altmann B, Twachtmann M, Muraki N, Voss I, Okutani S, Kurisu G, Hase T, and Hanke GT. (2012) *Plant Cell* **24**, 2979-2991
4. Electron Transfer of Site-specifically Cross-linked Complexes between Ferredoxin and Ferredoxin-NADP⁺ Reductase. Kimata-Arigo Y, Sakakibara Y, Ikegami T, and Hase T. (2010) *Biochemistry* **49**, 10013-10023.
5. A 1-megadalton translocation complex containing Tic20 and Tic21 mediates chloroplast protein import at the inner envelope membrane. Kikuchi S, Oishi M, Hirabayashi Y, Nakai M, et al. (2009) *Plant Cell* **21**, 1781-1797.
6. Molecular interaction of Ferredoxin and Ferredoxin-NADP⁺ reductase from human malaria parasite. Kimata-Arigo Y, Hase T, et al. (2007) *J. Biochem.* **142**, 715-720.

細胞外マトリックス研究室

教授 関口 清俊
助 教 山田 雅司
技術専門職員 乗岡 尚子



連絡先 Tel: 06-6879-8617; Fax: 06-6879-8619; E-mail: sekiguch@protein.osaka-u.ac.jp

本研究室では、“動物組織の構築原理を細胞外マトリックスの機能解明を通じて理解する”ことを大きなテーマとしている。動物細胞の周囲に形成される細胞外マトリックスは、単なる細胞間の詰め物ではなく、その中には細胞の生存を維持し、増殖・分化を制御する様々な情報がバーコードのように書き込まれている。細胞はインテグリンに代表される細胞表面のセンサー分子を使ってこのバーコード情報を読みとり、その情報に基づいて細胞内のシグナル伝達系と骨格系を制御している。本研究室では、細胞外マトリックスを構成する蛋白質の構造と機能の解明を通じて、細胞外マトリックスに書き込まれた情報の実体を明らかにするとともに、この情報がインテグリンのようなセンサー分子を介してどのように細胞内に伝達され、それが細胞の増殖・分化をどのように制御しているかを分子レベル、細胞・組織レベル、個体レベルでそれぞれ解明することを目指している。また、そこで得られた知見に基づき、細胞ごとにカスタマイズされた細胞外マトリックスの再構築を通じて、ES細胞や組織幹細胞を含む様々な細胞を生体外で培養・維持するための新しい方法論の開発を行っている。

【研究課題】

- 1) 基底膜蛋白質の精製・発現・機能解析
- 2) 発生における基底膜分子構成の時空間制御機構
- 3) インテグリンによるリガンド識別機構
- 4) テトラスパニンによる細胞機能の制御機構
- 5) ES細胞・組織幹細胞の分化誘導制御技術の開発

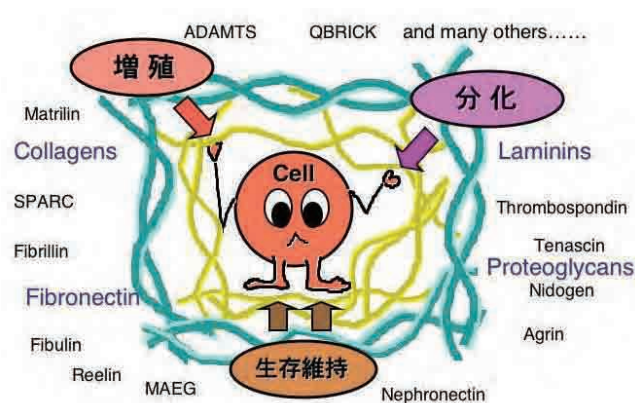


図1：細胞外マトリックスによる細胞の増殖・分化・生存維持。細胞は周囲の細胞外マトリックスに接着することにより、生存を維持し、増殖と分化形質の制御を行なっている。細胞周囲の細胞外マトリックスの組成は、細胞ごとにカスタマイズされている。

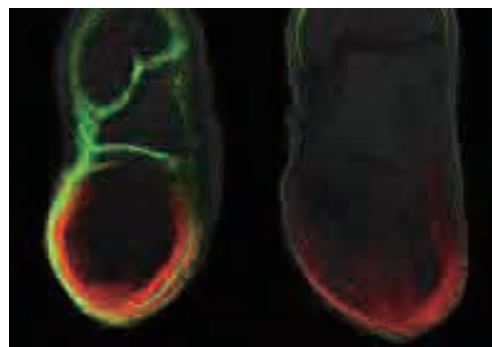


図2：マウス初期胚の多能性幹細胞は $\alpha 5$ 鎖ラミニンを足場としている。胎生7日目のマウス胚を多能性マーカーOct3/4（赤）とラミニン $\alpha 5$ 鎖（左：緑）と $\alpha 1$ 鎖（右：緑）で共染色した結果を示す。Oct3/4を発現する多能性幹細胞は $\alpha 5$ 鎖ラミニンを含む基底膜を足場としている。



図3：マウス基底膜ボディマップ。胎生16.5日のマウス胚における基底膜構成分子の局在を免疫組織染色法により解析した結果を高解像度の画像データとして閲覧できる世界初のデータベース。http://www.matrixome.com/bm/で自由に閲覧することができる。

【文献】

1. Transcriptome-based systematic identification of extracellular matrix proteins. Manabe, R. et al. (2008) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **105**, 12849-12854.
2. Polydom/SVEP1 is a ligand for integrin $\alpha 9 \beta 1$. Sato-Nishiuchi, R. et al. (2012) *J. Biol. Chem.* **287**, 25615-25630.
3. Basement membrane assembly of the integrin $\alpha 8 \beta 1$ ligand nephronectin requires Fraser syndrome-associated proteins. Kiyozumi, D. et al. (2012) *J. Cell Biol.* **197**, 677-689.
4. Laminin E8 fragments support efficient adhesion and expansion of dissociated human pluripotent stem cells. Miyazaki, T. et al. (2012) *Nature Commun.* **3**, 1236; doi 10.1038/ncomms2231.

エピジェネティクス研究室

教授 田嶋 正二
准教授 末武 勲
助教 木村 博信
技術職員 阿部 直行



連絡先 Tel: 06-6879-8628; Fax: 06-6879-8629; E-mail: tajima@protein.osaka-u.ac.jp

脊椎動物の染色体は DNA のメチル化修飾やヒストンの化学修飾を介してその構造が制御されており、この制御機構が遺伝情報の発現に重要な役割を果たしている。なかでも、DNA 中のシトシンの 5 位のメチル化修飾とヒストン tail のメチル化修飾は遺伝情報の発現抑制制御に最も重要な修飾であり、最近では相互にクロストークしていることがわかっている。私達は、染色体 DNA のメチル化修飾に焦点を絞り、その状態がどのように調節され、規定されているのかを、ヒストン tail のメチル化修飾の影響を含めて、明らかにすることを目指している。

【研究課題】

- 1) DNA メチル化修飾とヒストン修飾がクロマチンに与える影響の解析
- 2) DNA メチル化模様の形成と維持機構の解明
- 3) DNA メチル化酵素と相互作用する因子の探索

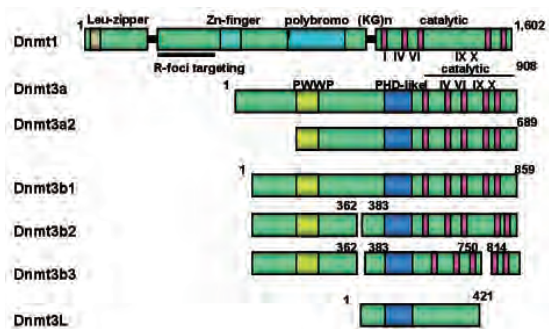


図 1 : DNA メチルトランスフェラーゼファミリー Dnmts の模式図。現在までに 4 遺伝子、Dnmt1、Dnmt3a、Dnmt3b と Dnmt3L が同定されている。

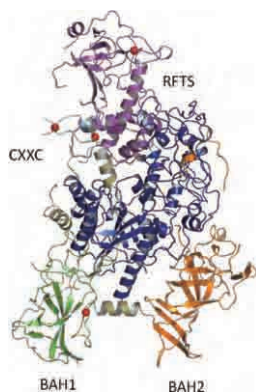


図 2 : マウス Dnmt1 のマルチドメイン構造。マウス Dnmt1 のリボンモデルを示す。C 末端の触媒領域は RFTS、CXXC モチーフ、2 つの BAH ドメイン (BAH1 と BAH2) に囲まれている。4 つの Zn を赤丸で示す。すべての Zn は Zn フィンガー様構造内に存在する。KG 繰返し構造は、N 末端調節領域と C 末端触媒領域を柔構造のリンカーとして繋いでいる。(文献 2)

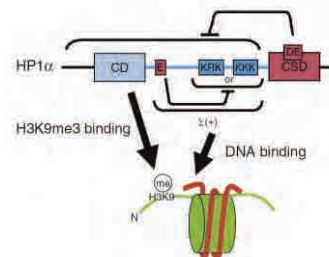


図 3 : HP1α のヌクレオソーム内の H3K9me3 認識機構。HP1α のヒンジ (HR) は弱い DNA 結合活性を持ち、これがクロモドメイン (CD) の H3K9me3 認識を促進している。また、CD がヌクレオソーム内の H3K9me3 を認識するためには HR のネットの正電荷 [Σ(+)] とクロモシャドウドメイン (CSD) の負電荷の微妙なバランスにより制御されている。(文献 4)

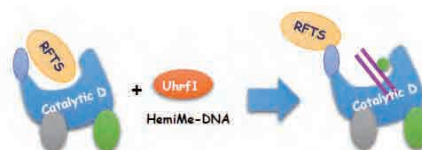


図 4 : 触媒ポケットを覆っている RFTS は Uhrf1 (SRA) によって追い出され、DNA が触媒中心にアクセスできるようになる。(文献 6)

【文献】

1. Mouse Dnmt3a preferentially methylates linker DNA and is inhibited by histone H1. Takeshima H, Suetake I, Tajima S (2008) *J. Mol. Biol.* **383**, 810-821.
2. Structural insight into maintenance methylation by mouse Dnmt1. Takeshita K, Suetake I, Yamashita E, Suga M, Narita H, Nakagawa A, Tajima S (2011) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **108**, 9055-9059.
3. Characterization of DNA-binding activity in the N-terminal domain of the DNA methyltransferase Dnmt3a. Suetake I, Mishima Y, Kimura H, Lee YH, Goto Y, Takeshima H, Ikegami T, Tajima S (2011) *Biochem. J.* **437**, 141-148.
4. Hinge and chromoshadow of HP1α participate in recognition of K9 methylated histone H3 in nucleosomes. Mishima Y, Watanabe M, Kawakami T, Jayasinghe CD, Otani J, Kikugawa Y, Shirakawa M, Kimura H, Nishimura O, Aimoto S, Tajima S, Suetake I (2013) *J. Mol. Biol.* **425**, 54-70.
5. Cell cycle-dependent turnover of 5-hydroxymethyl cytosine in mouse embryonic stem cells. Otani J, Kimura H, Sharif J, Endo TA, Mishima Y, Kawakami T, Koseki H, Shirakawa M, Suetake I, Tajima S (2013) *PLoS ONE* **8**, e82961.
6. The DNA methyltransferase Dnmt1 directly interacts with the SET and RING finger associated (SRA) domain of the multifunctional protein Uhrf1 to facilitate accession of the catalytic center to hemi-methylated DNA. Berkuyrek AC, Suetake I, Arita K, Takeshita K, Nakagawa A, Shirakawa M, Tajima S (2014) *J. Biol. Chem.* **289**, 379-386.

蛋白質有機化学研究室

教 授	北 條 裕 信
准教授	川 上 徹
講 師 (兼)	佐 藤 毅
助 教	朝 比 奈 雄 也



連絡先 Tel: 06-6879-8601; Fax: 06-6879-8603; E-mail: hojo@protein.osaka-u.ac.jp

本研究室では、化学合成蛋白質を用いた蛋白質の機能解析研究を進めるため、効率的な蛋白質合成法の開発を課題として研究を行っている。ポリペプチド鎖を幾つかに分割して合成し、それらを縮合(ライゲーション)することによって蛋白質に誘導するのが基本的な戦略である。糖蛋白質等の翻訳後修飾を持つものも効率的に合成するためには、全体の合成戦略にもとづく新規反応の開発が必要となる。また、疎水性の高い膜蛋白質の合成においては、ペプチドの可溶化法も必要となる。これらの研究を通して、糖蛋白質、修飾ヒストン、膜蛋白質の合成を行い、それらの機能解析研究を進めている。

【研究課題】

- 1) ペプチドライゲーション法の開発
- 2) 合成ブロックのデザインと合成法の開発
- 3) 糖蛋白質の合成とその機能解析
- 4) 膜蛋白質の合成化学的研究
- 5) 受容体型チロシンキナーゼの機能発現機構の解明
- 6) 修飾ヒストン H3, H4 の合成法の開発ならびに修飾と機能の相関関係の解明

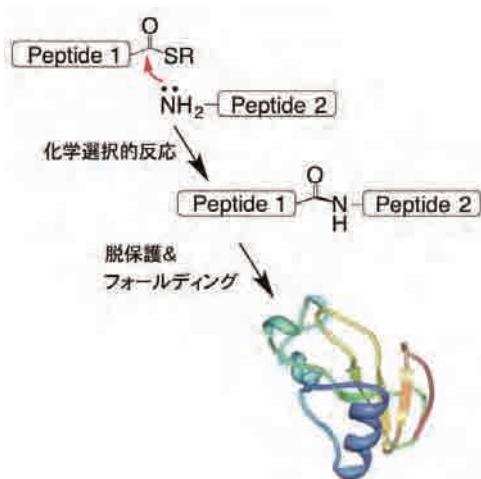


図 1 : 蛋白質化学合成法の概略。固相法により、鍵中間体である末端にチオエステル基を持つペプチドを合成する。そして、別途調製した末端に遊離アミノ基を持つペプチドによるアミノリシスを利用してペプチドセグメント同士を縮合する。この反応を繰り返してポリペプチド鎖全長を結合した後、脱保護、フォールディングを経て機能を持つ蛋白質へと誘導する。

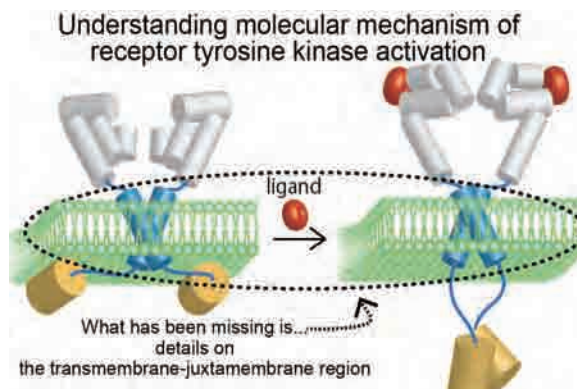


図 2 : 膜蛋白質の構造機能解析の概念図。1回膜貫通型蛋白質である受容体型チロシンキナーゼを研究対象とし、その膜貫通、膜近傍領域の構造と機能の相関解析を行い、受容体の機能発現機構の解明を目指す。

【文献】

1. Chemoenzymatic synthesis of immunoglobulin domain of Tim-3 carrying the complex type N-glycan using the one-pot ligation method. Asahina Y, Kamitori S, Takao T, Nishi N, Hojo H (2013) *Ang. Chem. Int. Ed.*, **52**, 9733-9737.
2. Fast preparation of an N-acetylglucosaminylated peptide segment for the chemoenzymatic synthesis of a glycoprotein. Asahina Y, Kanda M, Suzuki A, Katayama H, Nakahara Y, Hojo H (2013) *Org. Biomol. Chem.*, **11**, 7199-7207.
3. A novel post-ligation thioesterification device enables peptide ligation in the N to C direction: synthetic study of human glycodeilin. Takenouchi T, Katayama H, Nakahara Y, Nakahara Y, Hojo H (2013) *J. Pept. Sci.*, **20**, 55-61.
4. Model study using designed selenopeptides on the importance of the catalytic triad for the antioxidative functions of glutathione peroxidase. Takei T, Urabe Y, Asahina Y, Hojo H, Nomura T, Dedachi K, Arai K, Iwaoka M (2014) *J. Phys. Chem. B*, **118**, 492-500.
5. Enhancement in the Rate of Conversion of Peptide Cys-Pro esters to Peptide Thioesters by Structural Modification. Kawakami T, Kamauchi A, Harada E, Aimoto S (2014) *Tetrahedron Lett.*, **55**, 79-81.
6. Sequential Peptide Ligation by Combining the Cys-Pro Ester (CPE) and Thioester Methods and its Application to the Synthesis of Histone H3 Containing a Trimethyl Lysine Residue. Kawakami T, Akai Y, Fujimoto H, Kita C, Aoki Y, Konishi T, Waseda M, Takemura L, Aimoto S (2013) *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **86**, 690-697.
7. Transmembrane helix orientation influences membrane binding of the intracellular juxtamembrane domain in Neu receptor peptides. Matsushita C, Tamagaki H, Miyazawa Y, Aimoto S, Smith SO, Sato T. (2013) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **110**, 1646-1651.

蛋白質構造生物學研究部門

蛋白質構造形成研究室

教授 後藤 祐児
講師 李 映昊



連絡先 Tel: 06-6879-8614; Fax: 06-6879-8616; E-mail: ygoto@protein.osaka-u.ac.jp

多くの蛋白質はフォールディングすることによって特異的な立体構造を形成し、機能を発揮する。他方、蛋白質はミスフォールディングして規則的な凝集体であるアミロイド線維を形成し、アルツハイマー病やプリオン病の原因となる。フォールディングやミスフォールディングの分子機構を理解することは、蛋白質の構造と物性、機能を理解するために必要であるだけでなく、ミスフォールディングに関わる病気の理解にも重要である。本研究室では、円二色性、蛍光、核磁気共鳴などの分光法や、熱量計測や分析用超遠心など物理化学測定、全反射蛍光顕微鏡といった手法によって、蛋白質の構造と安定性、フォールディング反応の機構、アミロイド線維の構造と物性、形成機構を研究している。さらに、超音波によるアミロイド線維形成の制御の研究も行い、蛋白質の溶解度と過飽和が、アミロイド線維や不定形凝集の理解に重要であることを提案している。

【研究課題】

- 1) フォールディング反応の機構
- 2) アミロイド線維の構造と形成機構
- 3) 溶解度と過飽和に基づいた蛋白質のフォールディングとミスフォールディングの統合的理解

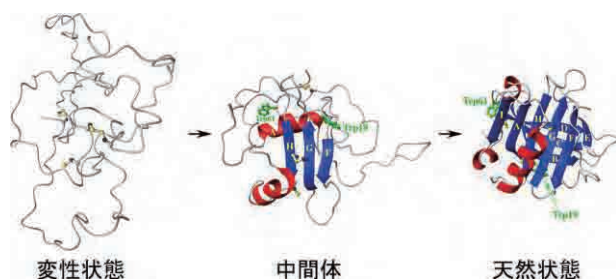


図1: β ラクトグロブリンのフォールディング反応。局所的相互作用によって、非天然 α ヘリックスを含む中間体が蓄積した後、非局所的相互作用を含む全体的な自由エネルギーが最小の主に β シートからなる天然状態を形成する。

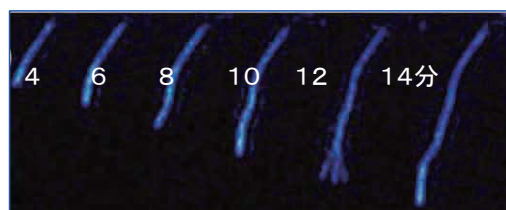


図2: 全反射蛍光顕微鏡を用いたアミロイド β ペプチドのアミロイド線維形成反応のリアルタイム線維観察。

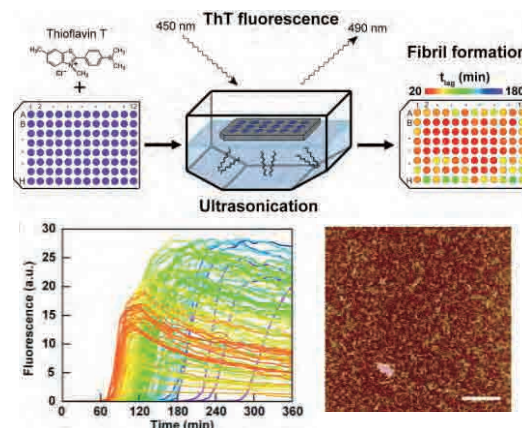


図3: 超音波による β 2ミクログロブリンのアミロイド線維形成。96穴プレートの蛋白質溶液に超音波を照射する。チオフラビンTの蛍光によって線維形成を検出する。

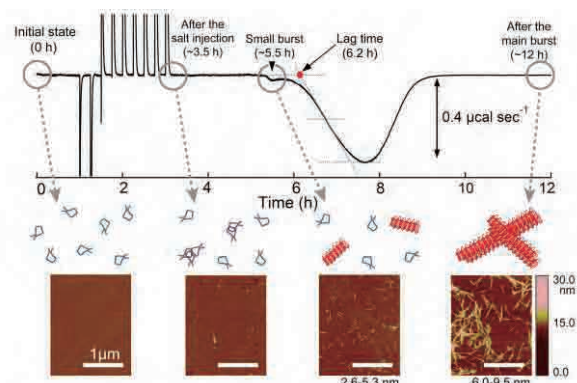


図4: β 2ミクログロブリンのアミロイド線維形成の等温滴定型熱量計を用いた熱測定。塩濃度を上昇、一定時間後に線維形成の発熱が観察される。これを解析することにより、アミロイド線維形成の熱力学的機構を議論した(文献4)。

【文献】

1. 過飽和生命科学の開拓 後藤祐児 (2013) 領域融合レビュー 2, e002.
2. Ultrasonication, an efficient agitation for accelerating the supersaturation-limited amyloid fibrillation of proteins. Yoshimura Y, So M, Yagi H, Goto Y (2013) *Jpn. J. Appl. Phys.* 52, 07HA01.
3. Solubility and supersaturation-dependent protein misfolding revealed by ultrasonication. Lin Y†, Lee Y-H†, Yoshimura Y, Yagi Y, Goto Y (2014) *Langmuir* 30, 1845-1854. †Equal contribution
4. Heat of supersaturation-limited amyloid burst directly monitored by isothermal titration calorimetry. Ikenoue T†, Lee, Y-H†, Kardos J, Yagi H, Ikegami T, Naiki H, Goto, Y. (2014) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* on line †Equal contribution.

機能構造計測学研究室

教授 藤原 敏道
准教授 児嶋 長次郎
助教 松木 陽



連絡先 Tel: 06-6879-8598; Fax: 06-6879-8599; E-mail: tfjwr@protein.osaka-u.ac.jp

本研究室は、核磁気共鳴（NMR）を主に用いて、タンパク質などの構造と機能を明らかにすることを目的にしている。NMRはタンパク質の働いている現場を細胞内であっても原子分解能で見ることができる。この特徴を生かして、分子構造を基にした生命の仕組みを解明する。具体的には、情報変換系、生体エネルギー変換系における機能発現機構を研究している。これらは生体膜などに関わる超分子システムであることが多く、必ずしも今までのNMRが得意とする領域ではない。そこで、膜タンパク質や高分子量のタンパク質複合体をも解析対象にできるNMRによる立体構造解析法や、標識試料調製法の開発も行っている。これには、NMR実験法以外に計算機科学的方法と分子生物学的方法を組み合わせることにより上述の課題に迫っている。

【研究課題】

- 1) NMRに基づく蛋白質の構造，相互作用，機能の解析
- 2) テラヘルツ波を用いたNMRの超高感度化
- 3) 生体系解析のためのNMR実験法，同位体標識試料調製法，データ解析法の開発



図1：600 MHz NMR超伝導マグネットと高出力テラヘルツ波光源である395GHzジャイロトロン。これらの装置によって達成される超偏極した核磁化は蛋白質のNMR感度を大幅に向上させる。このDNP-NMR分光計は蛋白研で開発された。(文献3)

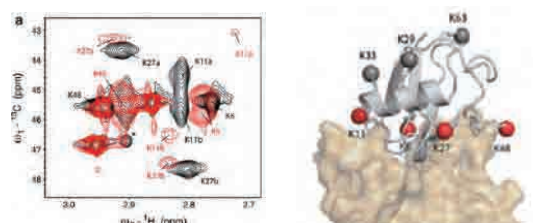


図2： ^1H - ^{13}C HSQC スペクトルとNMRが示す相互作用するユビキチン-蛋白質 YUH1。ユビキチンとYUH1はそれぞれリボンと表面表示で示した(1CMX)。ユビキチンの蛋白質発現後標識したメチル基をボールで示し、大きな化学シフト摂動があるものを赤で表示した。この方法で蛋白質試料調製が困難な蛋白質でもNMRで相互作用解析ができるようにした。(文献1)

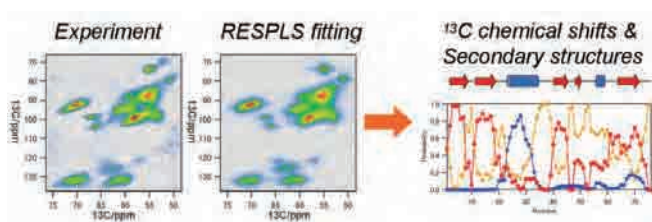


図3：蛋白質固体NMRスペクトルの自動解析法RESPLS。固体NMRスペクトルはしばしば分解能が十分でない。PDBjやBMRBデータベースに基づいたスペクトルシミュレーション法で信号帰属と二次構造解析を自動可能にした。これにより凍結乾燥状態でも解析ができるなど、より広範な状態の蛋白質を信頼性高く構造解析できるようになった。(文献2)

【文献】

1. Utilization of lysine ^{13}C -methylation NMR for protein-protein interaction studies. Hattori Y, Furuita K, Ohki I, Ikegami T, Fukada H, Shirakawa M, Fujiwara T, Kojima C (2013) *J. Biomol. NMR* **55**, 19-31.
2. Secondary Structural Analysis of proteins based on ^{13}C chemical shift assignments in unresolved solid-state NMR spectra enhanced by fragmented structure database, Ikeda K, Egawa A, Fujiwara T (2013) *J. Biomol. NMR* **55**, 189-200.
3. Helium-cooling and -spinning dynamic nuclear polarization for sensitivity-enhanced solid-state NMR at 14 T and 30 K, Matsuki Y, Ueda K, Idehara T, Ikeda R, Ogawa I, Nakamura S, Toda M, Anai T, Fujiwara T (2012) *J. Magn. Reson.* **225**, 1-9.
4. 14-3-3 proteins act as intracellular receptors for rice Hd3a florigen, Taoka K, Ohki I, Tsuji H, Furuita K, Hayashi K, Yanase T, Yamaguchi M, Nakashima C, Purwestri YA, Tamaki S, Ogaki Y, Shimada C, Nakagawa A, Kojima C, Shimamoto K (2011) *Nature* **476**, 332-335.

蛋白質結晶学研究室

教授 栗栖 源嗣
准教授 田中 秀明
助教(兼) 武藤 梨沙



連絡先 Tel: 06-6879-8605; Fax: 06-6879-8606; E-mail: gkurisu@protein.osaka-u.ac.jp

生体の中で、蛋白質はネットワークを形成しながら機能しています。我々は、蛋白質結晶学の手法で複合体状態の蛋白質を結晶化し、結晶構造に基づいて生命システムを理解しようという研究室です。「呼吸」「光合成」「生体運動」など、特にエネルギー変換に関わる生体反応に限って考えた場合、その働きは複合体蛋白質の結晶構造を基に理解することができます。我々の研究室では、「光合成」「分子モーター」「生体超分子」をキーワードに、以下の研究プロジェクトを進めています。

【研究課題】

- 1) 光合成エネルギー変換と、それにリンクしたレドックス代謝反応の分子機構
- 2) 巨大分子モーターダイニンの構造解析
- 3) 生体超分子複合体 Vault の高分解能構造解析

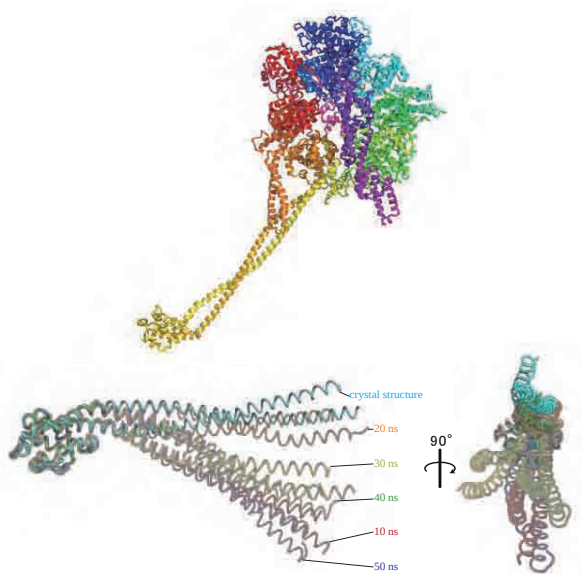


図1. ADP結合状態のダイニンモータードメインの構造(上)とストーク領域が示す分子振動(下)。ダイニンの運動活性は、重鎖のモータードメインが担っている。モータードメインは、力発生を担うリンカー(紫)、ATP加水分解を行うAAA+リング(青～赤)、微小管結合領域を含むストーク領域(黄色)、およびC末端にあるC-sequence領域(桃色)から構成されている。下図は、高分解能で構造解析したストーク領域単独の結晶構造(水色)と分子動力学計算によって得られた時分割構造(他色)とを、微小管結合領域で重ねている。分子が方向性をもって振動していることが判る。

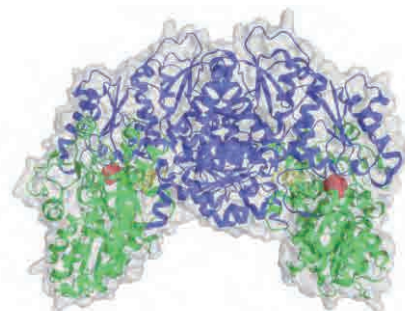


図2. 暗所作動型プロトクロロフィリド還元酵素の結晶構造。[4Fe-4S]クラスターをCPKモデルで、基質であるクロロフィル前駆体(プロトクロロフィリド)を黄色のstickモデルで描画している。BchNとBchBの各サブユニットは緑と青のリボンモデルで表している。

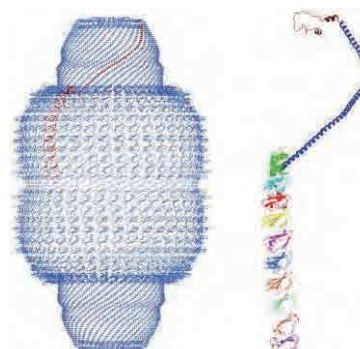


図3. ボルト外殻の全体構造。(左図) ボルト外殻は78個のMVP分子で構成される。粒子中のMVP1分子を赤色、他の分子を青色で示している。(右図) MVPモノマーは、9つの繰り返し構造を含む13個のドメインで形成されている。各ドメインを異なる色で示している。

【文献】

1. The 2.8 Å crystal structure of the dynein motor domain. Kon *et al.*, (2012) *Nature*, **484**, 345-350
2. X-ray crystal structure of the light-independent protochlorophyllide reductase. Muraki *et al.* (2010) *Nature*, **465**, 110-116.
3. The Structure of Rat Liver Vault at 3.5 Angstrom Resolution. Tanaka *et al.* (2009) *Science*, **323**, 384-388.
4. Structural Basis of *Equisetum arvense* Ferredoxin Isoform II Producing an Alternative Electron Transfer with Ferredoxin-NADP+ Reductase. Kurisu *et al.* (2005) *J. Biol. Chem.*, **280**, 2275-2281.
5. Structure of the Cytochrome *b₆f* complex of Oxygenic Photosynthesis: Tuning the cavity. Kurisu *et al.* (2003) *Science* **302**, 1009-1014.
6. Structure of the electron transfer complex between ferredoxin and ferredoxin-NADP(+) reductase. Kurisu *et al.* (2001) *Nature Struct. Biol.*, **8**, 117-121.

膜蛋白質化学研究室

独立准教授

三間 穰治



連絡先 Tel: 06-6879-4326; Fax: 06-6879-4329; E-mail: Joji.Mima@protein.osaka-u.ac.jp

本研究室は、真核細胞内における蛋白質・脂質等の物質輸送の原理解明を研究トピックに、再構成プロテオリポソーム実験系を軸とする生化学・膜蛋白質化学研究を推進している。この細胞内物質輸送は、多様な細胞小器官オルガネラを含む複雑な細胞内膜画分のダイナミックな動き・変化によって担われており、メンブレントラフィック (Membrane traffic) とも呼ばれる。酵母からヒトを含む高等動物まで全ての真核細胞において、この細胞内物質輸送 (メンブレントラフィック) を駆動する細胞内膜動態・膜ダイナミクスは、時空間的に厳密に制御されなければならない。しかしながら、従来の「生きた細胞」を用いた細胞生物学・遺伝学的研究手法や「細胞より精製・単離したオルガネラ」を用いた生化学的研究手法だけでは、脂質二重膜と膜タンパク質複合体を含む蛋白質因子群が協調的に働く、メンブレントラフィックの分子マシナリーを理解する事は非常に困難である。そこで、本研究グループは、人工脂質二重膜であるリポソームと、数十種類にも及ぶ膜タンパク質複合体を含めた精製タンパク質群を材料に、様々な細胞内オルガネラ膜動態を人工的に試験管内で再現する「再構成プロテオリポソーム系」を構築し、それらの動作原理の解明を目指している。現在まで、多様な膜動態の中でも特に、メンブレントラフィック、オルガネラ形態、ホルモン分泌、そしてシナプス神経伝達に必須かつ根源的な生体膜反応である、「膜テザリング (繫留)・膜ドッキング・膜融合」に焦点を当てて研究を展開している。これまで、出芽酵母細胞とヒト細胞をモデルに、SNARE ファミリー蛋白質、SNARE 結合性シャペロン蛋白質、Rab GTP アーゼなどの膜蛋白質因子群、そしてホスホиноシチドとステロール等を含む脂質因子群から構成されるオルガネラ膜テザリング・ドッキング・融合マシナリーの再構成プロテオリポソーム系の構築に成功している。そして、これらの再構成プロテオリポソーム系を駆使することで、「SNARE、SNARE シャペロン、Rab GTP アーゼが、(1) どのような作用機序で協同的に働いて膜テザリング・ドッキング・融合反応を駆動するのか? (2) そして膜コンパートメント特異性・選択性をどのように決定するのか?」を大きなテーマにそれらの分子レベルでの仕組みを見出そうとしている。今後も、再構成プロテオリポソーム系を中心に、膜蛋白質化学的アプローチを駆使して、多様なオルガネラ膜ダイナミクスを司る分子マシナリーの詳細な理解に挑戦する。

【研究課題】

- 1) SNARE ファミリー蛋白質、SNARE シャペロン、Rab GTP アーゼにより駆動される膜テザリング・ドッキング・融合反応マシナリーの研究
- 2) SNARE ファミリー蛋白質、SNARE シャペロン、Rab GTP アーゼにより制御される膜テザリング・ドッキング・融合の細胞内コンパートメント特異性・選択性を決定する分子機構の研究

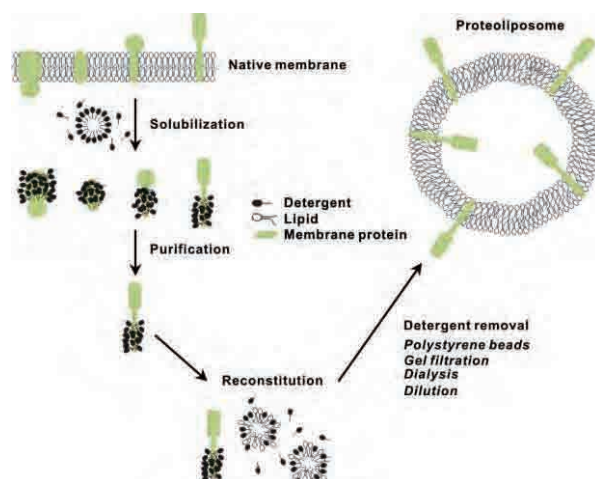


図1：再構成プロテオリポソームの調製

【文献】

1. Multiple and distinct strategies of yeast SNAREs to confer the specificity of membrane fusion. Furukawa N, Mima J (2014) *Sci Rep* 4, 4277.
2. LegC3, an effector protein from *Legionella pneumophila*, inhibits homotypic yeast vacuole fusion *in vivo* and *in vitro*. Bennett TL, Kraft SM, Reaves BJ, Mima J, O'Brien KM, Starai VJ (2013) *PLoS One* 8, e56798.
3. Distinct contributions of vacuolar Qabc- and R-SNARE proteins to membrane fusion specificity. Izawa R, Onoue T, Furukawa N, Mima J (2012) *J Biol Chem* 287, 3445-3453.
4. Minimal membrane docking requirements revealed by reconstitution of Rab GTPase-dependent membrane fusion from purified components. Stroupe C, Hickey CM, Mima J, Burfeind A, Wickner W (2009) *Proc Natl Acad Sci USA* 106, 17626-17633.
5. Phosphoinositides and SNARE chaperones synergistically assemble and remodel SNARE complexes for membrane fusion. Mima J, Wickner W (2009) *Proc Natl Acad Sci USA* 106, 16191-16196.
6. Complex lipid requirements for SNARE- and SNARE chaperone- dependent membrane fusion. Mima J, Wickner W (2009) *J Biol Chem* 284, 27114-2712.
7. Reconstituted membrane fusion requires regulatory lipids, SNAREs and synergistic SNARE chaperones. Mima J, Hickey CM, Xu H, Jun Y, Wickner W (2008) *EMBO J* 27, 2031-2042.

蛋白質高次機能学研究部門

ゲノムー染色体機能研究室

教授 篠原 彰
准教授 篠原 美紀

連絡先 Tel: 06-6879-8624; Fax: 06-6879-8626
E-mail: ashino@protein.osaka-u.ac.jp



本研究室は、蛋白質高次機能研究として、下記の研究を推進している。(1) 真核生物における DNA 交換反応である組換え、相同組換えと非同末端結合のメカニズム、(2) ゲノムの安定化機構とゲノム不安定化による発ガンの仕組み、(3) 配偶子のゲノムの多様性を生み出し、染色体分配に必須である相同組換えとその制御のメカニズム、(4) 減数分裂期の染色体構造形成(シナプトネマ複合体形成)や染色体の動きの制御とその生物学的に意義の解明。

体細胞期の組換えの破綻はゲノムの不安定化を誘発し、細胞の癌化の原因になる。一方、減数分裂期の組換えの機能不全は不妊症やダウン症に代表される異数体病の原因になることが知られている。このような病気との関連も同時に解析している。

【研究課題】

- 1) 相同組換えに関与する蛋白質の機能、構造の研究
- 2) 減数分裂期特異的染色体構造の機能の研究
- 3) ヒストン修飾と組換えの関係の研究
- 4) DNA 2 重鎖切断修復経路の選択機構の研究
- 5) ヒトの組換えと修復反応の研究

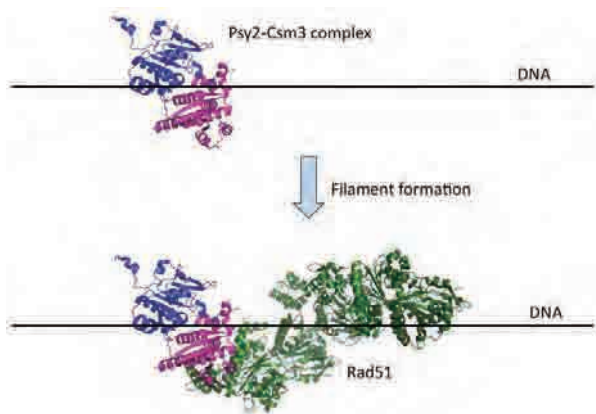


図 1: Psy3-Csm2 による Rad51 フィラメント形成の促進 組換えに関わる新規のタンパク質複合体を同定した。この複合体は Rad51 の集合に必要であり、そのコアサブユニットである Psy3-Csm2 の X 線構造解析で構造を決定したところ、Rad51 と相同であることが分かった。その構造から図にあるような Psy3-Csm2 が DNA に結合し(上段)、Rad51 フィラメント形成を促進する(下段)モデルを提唱した(文献 4)。

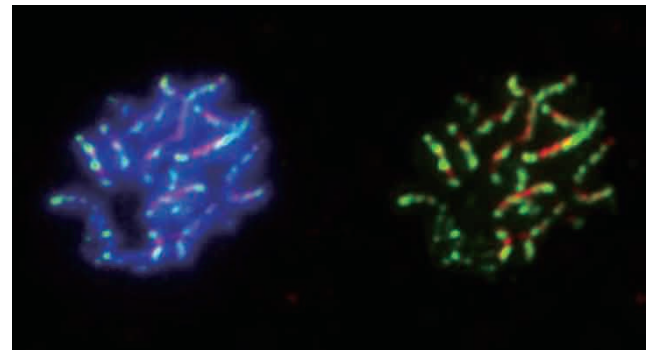


図 2: 減数分裂期の染色体構造 減数分裂期では父、母由来の相同染色体が対合してシナプトネマ複合体という特殊な構造を作る。Zip1(緑)と Rec8(赤)の間接蛍光抗体像を示している。



図 3: M 期の染色体の不安定性 M 期の染色体上に DNA 2 重鎖切断が生じると Anaphase bridge と呼ばれる異常な染色体構造ができ、修復されないとゲノムの不安定化に結びつくと考えられている。

【文献】

1. A new protein complex promoting the assembly of Rad51 filaments. Sasanuma, H., Tawaramoto, M.S., Lao, J., Hosaka, H., Sanda, E., Suzuki, M., Yamashita, E., Shinohara, M., Hunter, N., Nakagawa, A. and Shinohara, A. (2013) *Nature Comms.* **4**, 1676-1688.
2. *Saccharomyces cerevisiae* Srs2 helicase disassembles Rad51 from meiotic chromosomes. Sasanuma, H., Furihata Y., Shinohara, M. and Shinohara, A. (2013) *Genetics*, **194**, 859-872.
3. Multiple Pathways Suppress Non-Allelic Homologous Recombination during Meiosis in *Saccharomyces cerevisiae*. Shinohara, M. and Shinohara, A. (2013). *PLoS ONE*, **4**, e63114.
4. CDK-dependent phosphorylation of Lif1 and Sae2 control imprecise non-homologous end joining accompanied with DSB resection. Matsuzaki K., Terasawa, M., Iwasaki, D., Higashide, M. and Shinohara, M. (2012) *Genes-to-Cells*, **17**, 473-493.
5. The Mps3 SUN domain is important for chromosome motion and juxtaposition of homologous chromosomes during meiosis. Rao, H.B.D.P., Shinohara, M. and Shinohara, A. (2012) *Genes-to-Cells*, **16**, 1081-1096.
6. Crossover assurance and crossover interference are distinctly regulated by the ZMM proteins during yeast meiosis. Shinohara, M., Oh, S., Hunter, N., and Shinohara, A. (2008) *Nature Genet.* **40**, 299-309.
7. A protein complex containing Mei5 and Sae3 promotes the assembly of the meiosis-specific RecA homolog Dmc1. Hayase, A., Takagi, M., Miyazaki, T., Oshiumi, H., Shinohara, M. and Shinohara, A. (2004) *Cell* **119**, 927-940.

神経発生制御研究室

教授 吉川 和明
助 教 長谷川 孝一
助 教 藤原 一志郎



連絡先 Tel: 06-6879-8621; Fax: 06-6879-8623; E-mail: yoshikaw@protein.osaka-u.ac.jp

本研究室は、哺乳類におけるニューロンの発生と生存を制御する蛋白質間相互作用 (PPI) の解明を目指している。研究の中心である Necdin は、1991 年、神経分化させた多能性幹細胞に誘導される蛋白質として発見された。Necdin 遺伝子 (*NDM*) は、哺乳類特有のゲノム刷込み現象によって父親由来のものだけが発現している。Necdin は MAGE (melanoma antigen) ファミリーに属する蛋白質と高度に保存されたホモロジー領域を共有する (図 1)。Necdin は、哺乳類のニューロンや神経幹細胞において多数の蛋白質と結合するため、細胞増殖・分化や生存・死の制御に関わる PPI ネットワークの中核 (ハブ) として機能しているものと考えられる (図 2)。また、Necdin の異常が、ヒト脳で発達障害や神経変性疾患を起こす可能性についても研究している。

【研究課題】

- 1) ニューロン発生の分子機構
- 2) ニューロン生存の分子機構

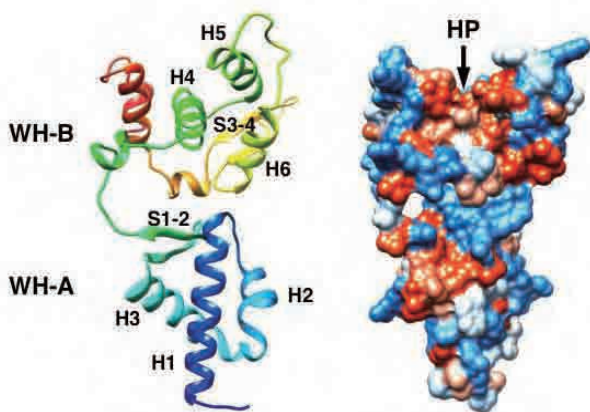


図 1 : Necdin MAGE ホモロジードメインの立体構造モデル。Necdin の MAGE ホモロジードメイン (MHD) の立体構造を Necdin-like 2 の立体構造情報 (PDB 3NWO) に基づいて予測した。予測には本研究所で開発された Spanner プログラムを用いた。Necdin MHD はゴブレット様の外観を呈し、二つの winged helix モチーフ (WH-A, WH-B) から構成されている。このモチーフは、細胞核内で DNA や蛋白質と超分子複合体を形成する蛋白質に多くみられる。Necdin MHD の変異体を用いた実験によって、ヘリックス 4-5 領域 (左図, H4-H5) を含む疎水性ポケット領域 (右図, HP) は、種々の蛋白質と結合するものと推定される。

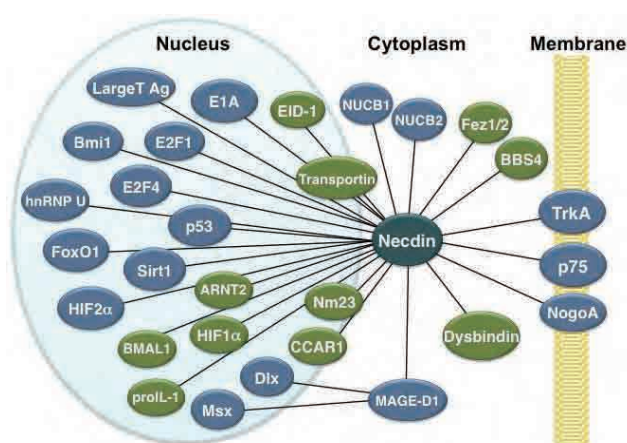


図 2 : 蛋白質相互作用ネットワークにおけるハブ蛋白質としての Necdin。Necdin は哺乳類の神経系細胞の分化と生存に関与する蛋白質と結合して PPI ネットワークを形成する。Necdin と結合する p53, E2F, FoxO, Sirt1, HIF, Bmi1 などの核蛋白質や Trk, p75 などの細胞膜受容体は、細胞の生存と死、増殖、エネルギー代謝などに関与するネットワークのハブとして働くことが知られている。したがって、Necdin はニューロンや神経幹細胞における PPI ネットワーク間の相互作用を統御する役割をもつものと考えられる。図中、青色と黄緑色で示した蛋白質は、それぞれ本研究室と他の研究室から報告された PPI で、機能と関連づけられているもの。Necdin はこの他にも数十種類の蛋白質と結合することが知られている。

【文献】

1. Antagonistic interplay between necdin and Bmi1 controls proliferation of neural precursor cells in the embryonic mouse neocortex. Minamide R, et al. (2014) *PLoS One* **9**, e84460.
2. Necdin controls proliferation and apoptosis of embryonic neural stem cells in an oxygen tension-dependent manner. Huang Z, et al. (2013) *J. Neurosci.* **33**, 10362-10373.
3. Non-epithelial stem cells and cortical interneuron production in the human ganglionic eminences. Hansen DV, et al. (2013) *Nature Neuroscience* **16**, 1576-1587.
4. ERK inhibition rescues defects in fate specification of Nf1-deficient neural progenitors and brain abnormalities. Wang Y, et al. (2012) *Cell* **150**, 816-830.
5. Necdin controls Foxo1 acetylation in hypothalamic arcuate neurons to modulate the thyroid axis. Hasegawa K, et al. (2012) *J. Neurosci.* **32**, 5562-5572.
6. Thyroid hormone signaling acts as a neurogenic switch by repressing Sox2 in the adult neural stem cell niche. Lopez-Juarez A, et al. (2012) *Cell Stem Cell* **10**, 531-543.
7. Necdin controls proliferation of white adipocyte progenitor cells. Fujiwara K, et al. (2012) *PLoS One* **7**, e30948.

分子発生学研究室

教授 古川 貴久
准教授 大森 義裕
助教 佐貫 理佳子
技術職員 辻井 寿典



連絡先 Tel: 06-6879-8631; Fax: 06-6879-8631; E-mail: takahisa.furukawa@protein.osaka-u.ac.jp

本研究室は、脊椎動物、特にほ乳類の中枢神経系発生の分子機構を分子生物学、生物工学、生化学、細胞生物学、神経生理学など幅広い方法論により解明し、神経系の構築と機能発現の原理を生体 (*in vivo*) レベルで解明することを目指しています。私たちの脳には一千億個を超える神経細胞が存在していますが、神経系では多様な細胞が正確に発生・分化するだけではなく、それらが正しく結合して回路を作らねばなりません。私たちのゲノム DNA に書かれた遺伝プログラムが、いかにして RNA や蛋白質として機能発現することによって神経細胞を正確に作り、正しい相手と結合して精密な神経回路を形成し、最終的に生体において神経生理機能の発揮につながるのかを明らかにするために、私たちは網膜視覚系を主なモデルシステムとして研究を進めています。さらに、遺伝子から生理機能までの各ステップの異常がどのように人の病気を引き起こすのか、そしてそれをどのように解決できるか。このような医学的問題への貢献も積極的に進めています。私たちは、中枢神経系発生の「遺伝子から個体生理機能とヒト疾患までの統合的解明」を目指した研究を行っています。

【研究課題】

- 1) シナプス形成の分子機構の解析 (図 1)
- 2) マイクロ RNA (miRNA) による中枢神経系の制御メカニズムの解析 (図 2)
- 3) 神経細胞分化に関わる分子システムの解析
- 4) 神経系における細胞の“アンテナ” 繊毛” の機能解析

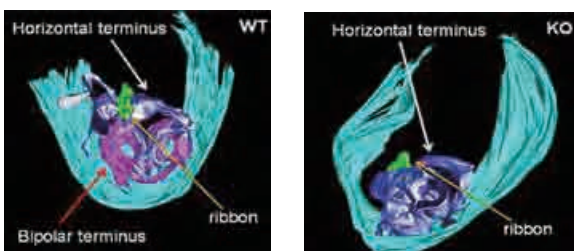


図 1 : 超高压電子顕微鏡による三次元トモグラフィ解析 (大阪大学超高压電子顕微鏡センターとの共同研究)
WT (野生型) の網膜視細胞の軸索末端には水平細胞 (紫) と双極細胞 (赤) の神経終末が進入してシナプスを形成しているが、ピカチュリン KO 網膜のリボンシナプスには双極細胞の神経終末が進入していない。

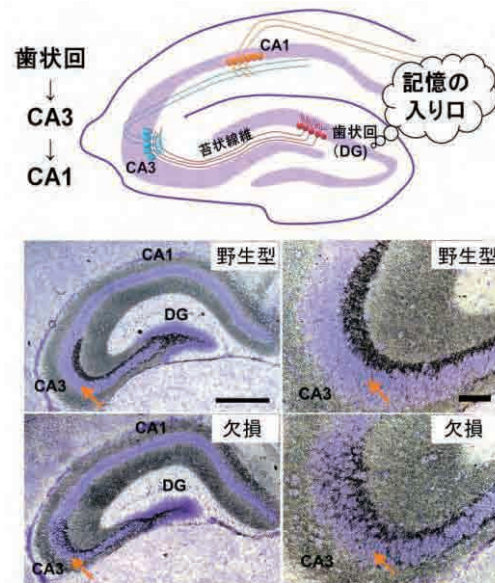


図 2 : マイクロ RNA-124a 欠失による海馬の神経投射の異常
海馬の歯状回の顆粒細胞 (赤) に入った情報は苔状線維を介して CA3 の錐体細胞 (青) へと伝達され、さらに CA1 へと伝わる。miR-124a 欠損マウスでは (欠損)、苔状線維と CA3 錐体細胞の回路形成が正しい位置で形成されず、苔状線維の CA3 領域への異常進入が認められた。

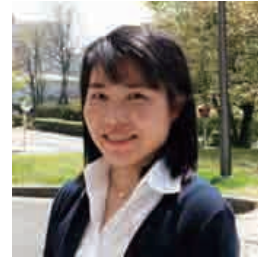
【文献】

1. ICK is essential for cell type-specific ciliogenesis and the regulation of ciliary transport. Chaya T, Omori Y, Kuwahara R, Furukawa T (2014) *EMBO J* 33, 1227-1242.
2. Presynaptic Dystroglycan-Pikachurin Complex Regulates the Proper Synaptic Connection between Retinal Photoreceptor and Bipolar Cells. Omori et al. (2012) *J of Neuroscience* 2, 6126-6137.
3. An essential role for RAX homeoprotein and NOTCH-HES signaling in Otx2 expression in embryonic retinal photoreceptor cell fate determination. Muranishi et al. (2011) *J of Neuroscience* 16, 16792-16807.
4. miR-124a is required for hippocampal axogenesis and retinal cone survival through Lhx2 suppression. Sanuki et al. (2011) *Nature Neuroscience* 14, 1125-1134.
5. Negative regulation of ciliary length by ciliary male germ cell-associated kinase (Mak) is required for retinal photoreceptor survival. Omori et al. (2010) *PNAS* 107, 22671-22676.
6. Blimp1 suppresses Chx10 expression in differentiating retinal photoreceptor precursors to ensure proper photoreceptor development. Katoh et al. (2010) *J of Neuroscience* 12, 6515-6526.
7. Pikachurin, a dystroglycan ligand, is essential for photoreceptor ribbon synapse formation. Sato et al. (2008) *Nature Neuroscience* 11, 923-931.

細胞核ネットワーク研究室

独立准教授 加納 純子

連絡先 Tel: 06-6879-4328; Fax: 06-6879-4329
E-mail: jkanoh@protein.osaka-u.ac.jp



生物は、細胞内外の様々な環境シグナルに対して迅速かつ的確に応答して生き延びなくてはならない。そのために、個々のシグナルに応じたシグナル伝達経路を発達させている。我々は、複数の異なるシグナル伝達に関与する「要（かなめ）」のタンパク質に着目し、細胞内におけるタンパク質やシグナル伝達の有機的な結びつき（ネットワーク）を解明することにより、動的な生命情報の発現原理を明らかにすることを目指している。特に、染色体維持、栄養感知に関するシグナル伝達のクロストークについて研究を進めている。本研究は、染色体病、細胞癌化や糖尿病など様々な疾患の原因究明にむけて有効な情報を生み出すことが期待される。

【研究課題】

- 1) テロメア結合蛋白質複合体の新規機能の解明
- 2) テロメアを含む染色体非コード領域が形成する機能ネットワークの解明
- 3) Tel2-PIKK タンパク質相互作用ネットワークの分子基盤の解明

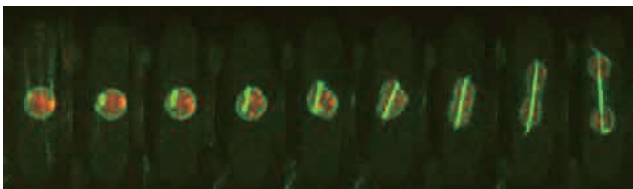


図1：細胞分裂期におけるテロメアの動態観察。テロメア結合蛋白質 Taz1 (赤)、細胞膜 (緑)、微小管 (緑) をライブ観察した。テロメアが核膜から一時的に解離する様子が見える。

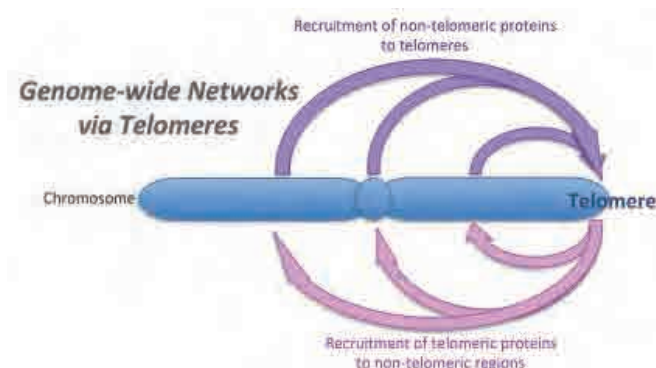


図2：テロメアを基軸とした染色体機能ネットワーク。テロメア結合蛋白質はテロメア以外の染色体領域においても様々な機能を果たしていることが明らかにされつつある。さらに、非テロメア領域からテロメアへリクルートされて機能する蛋白質も多く存在する。

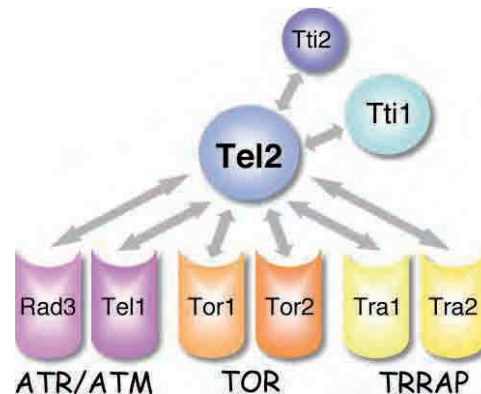


図3：Tel2-PIKK ネットワーク。Tel2 蛋白質は、すべての PIKK (phosphoinositide 3-kinase-related kinase) ファミリー蛋白質と相互作用する。さらに、Tti1、Tti2 蛋白質とも安定な複合体を形成する。ATM/ATR は、DNA 損傷・複製チェックポイントに関与する。TOR は、栄養源の取り込みや細胞増殖を制御する。TRRAP は、ヒストンのアセチル化を介した細胞応答反応を制御する。どのようにして Tel2 がすべての PIKK を制御するのかについて、まだ謎が多く残されている。

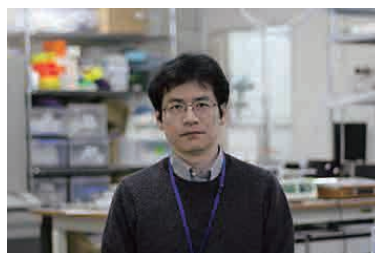
【文献】

1. Release of chromosomes from the nuclear envelope: a universal mechanism for eukaryotic mitosis? Kanoh J (2013) *Nucleus* 4, 100-104.
2. Identification of the functional domains of the telomere protein Rap1 in *Schizosaccharomyces pombe*. Fujita I et al. (2012) *PLoS ONE* 7, e49151.
3. Telomere-nuclear envelope dissociation promoted by Rap1 phosphorylation ensures faithful chromosome segregation. Fujita I et al. (2012) *Curr. Biol.* 22, 1932-1937.
4. A conserved motif within RAP1 plays diversified roles in telomere protection and regulation in different organisms. Chen Y et al. (2011) *Nat. Struct. Mol. Biol.* 18, 213-221.
5. Fission yeast Ku protein is required for recovery from DNA replication stress. Miyoshi T et al. (2009) *Genes Cells* 14, 1091-1103.
6. Fission yeast Pot1-Tpp1 protects telomeres and regulates telomere length. Miyoshi T et al. (2008) *Science* 320, 1341-1344.
7. Rapamycin-sensitivity of the *S. pombe tor2* mutant and organization of two highly phosphorylated TOR complexes by specific and common subunits. Hayashi T et al. (2007) *Genes Cells* 12, 1357-1370.
8. Tel2 is required for the activation of Mrc1-mediated DNA replication checkpoint. Shikata M et al. (2007) *J. Biol. Chem.* 282, 5346-5355.
9. Telomere-binding protein Taz1 establishes Swi6 heterochromatin independently of RNAi at telomeres. Kanoh J et al. (2005) *Curr. Biol.* 15, 1808-1819.

体内環境統合蛋白質研究グループ

准教授 奥村宣明

連絡先 Tel: 06-6879-4312; Fax: 06-6879-4332
E-mail: nokumura@protein.osaka-u.ac.jp



本研究グループは、蛋白質研究に基づいた哺乳動物の生理学研究を行っている。哺乳動物では、脳の視床下部に概日リズム、自律神経調節、摂食調節などの中枢が存在し、体内環境の恒常性維持の中心としてはたっている。当研究室では視床下部を中心とする体内恒常性維持機構、特に、ヒスチジン含有ジペプチドであるカルノシンの代謝と機能、カルノシン分解酵素の構造と機能の解析を行っている。最近では、蛋白質-蛋白質、あるいは蛋白質-リガンド複合体の質量分析による解析から、ネイティブなカルノシン分解酵素の非共有結合による複合体の特性を明らかにしようとして解析を進めている。また、プロテオミクスの方法論の開発と応用による種々の生体サンプルの分析も行っている。

【研究課題】

- 1) ヒスチジン含有ジペプチドの合成、分解の機構とその機能に関する研究
- 2) 質量分析法を用いた全長蛋白質の解析法の開発、ならびに非共有結合による蛋白質複合体の解析
- 3) プロテオミクスの解析法の開発と応用による生体試料の分析
- 4) 蛋白質の構造解析のための蛋白質品質評価法の開発と応用

β -Alanine + L-Histidine

Carnosine synthetase
Carnosine
L-Carnosine
Carnosine dipeptidase

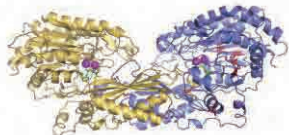


図1：カルノシンの合成、分解とカルノシンジペプチダーゼ。カルノシンは β -アラニンとL-ヒスチジンからなるジペプチドで、骨格筋と脳に高濃度で存在する。カルノシンはこれらの組織でカルノシン合成酵素によって合成される一方、種々の組織でカルノシンジペプチダーゼによって分解される。われわれはカルノシンを分解する酵素の一つであるカルノシンジペプチダーゼ2 (CN2)を同定し、酵素的性質を検討するとともに、X線結晶構造解析によって立体構造を明らかにし、反応機構の解析を行った(文献5)。

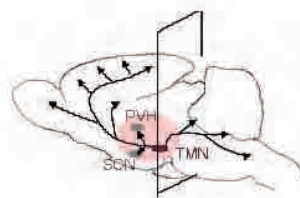
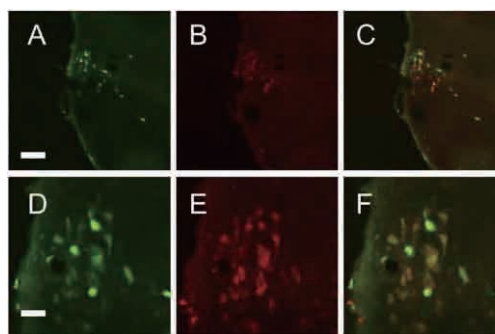


図2：マウス視床下部におけるCN2の局在。CN2は生体内の多くの組織に存在するが、特に発現レベルの高い細胞が脳や末梢組織においてみられる。脳では、視床下部の後部にある結節乳頭核 (Tuberomammillary nucleus) に特に強く染色される細胞が見出され (B, E)、さらにそれらがヒスチジンデカルボキシラーゼと共存していた (A, D) ことから、脳内ヒスタミンニューロンに高濃度で存在することが明らかになった。これらの細胞では、ヒスタミン合成のためにヒスチジンが必要であり、CN2の発現はこのヒスチジンを供給するためではないかと考えられる(文献6)。

【文献】

1. Carnosine dipeptidase II. Okumura N (2013) in *Handbook of proteolytic enzymes*, 3rd ed., 1596-1600, Elsevier.
2. Diversity in protein profiles of individual calcium oxalate kidney stones. Okumura N, et al. (2013) *PLoS One* **8**, e68624.
3. Identification of cargo proteins specific for importin-beta with importin-alpha applying a stable isotope labeling by amino acids in cell culture (SILAC)-based in vitro transport system. Kimura M, et al. (2013) *J. Biol. Chem.* **288**, 24540-24549.
4. Role of L-carnosine in the control of blood glucose, blood pressure, thermogenesis, and lipolysis by autonomic nerves in rats: involvement of the circadian clock and histamine. Nagai K, et al. (2012) *Amino Acids*. **43**, 97-109.
5. Structural basis for substrate recognition and hydrolysis by mouse carnosinase CN2. Unno H, et al. (2008) *J. Biol. Chem.* **283**, 27289-27299.
6. Colocalization of a carnosine-splitting enzyme, tissue carnosinase (CN2)/cytosolic non-specific dipeptidase 2 (CNDP2), with histidine decarboxylase in the tuberomammillary nucleus of the hypothalamus. Otani H, et al. (2008) *Neurosci Lett.* **445**, 166-169.

蛋白質国際統合研究部門

外国人客員 PI 研究室

客員教授 Matthias RÖGNER

客員教授 Thomas HAPPE

(Lehrstuhl für Biochemie der Pflanzen, Fakultät für Biologie & Biotechnologie, Ruhr-Universität Bochum)

連絡先 E-mail: matthias.roegner@rub.de & thomas.happe@rub.de



Prof. RÖGNER



Prof. HAPPE

Research in the laboratory of Matthias Rögner focuses on the structure, function, regulation and biogenesis of energy transducing membrane proteins from cyanobacteria. Selected topics are dynamics and adaptations of bioenergetic processes in the thylakoid membrane in response to environmental signals both on the level of individual proteins and their (transient) interaction partners and on the level of membrane composition (including lipids and domain structures).

The Happe group analyzes the anaerobic metabolism of the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* in all its aspects and was able to characterize various cellular and biochemical processes essential for photobiological H_2 production. They also study structure-function relationships of Fe-Fe hydrogenases including a detailed characterization of the active center cofactor (H-cluster) and the catalytic turnover process. A novel in vitro maturation assay was recently established leading to semi-artificial hydrogenase with high catalytic activity.

Both groups cooperate in the creation of a cyanobacterial design cell which combines the mechanism of photosynthetic water-splitting with hydrogen production via imported hydrogenase at the expense of CO_2 -fixation. Prerequisite is the re-routing of photosynthetic electrons by modifying protein-protein interactions and establishing of a eukaryotic maturation system for (engineered) hydrogenase in a prokaryotic cell. Especially for the optimization of our structure-function design strategy including modifications of a semisynthetic cofactor and also for the structure determination of new transient docking proteins we would like to continue our fruitful cooperation with scientists of the IPR (Osaka University).

【Current Research Programs】

- 1) Primary reactions & dynamic modification/repair mechanisms of water-splitting Photosystem 2 in cyanobacteria (Ref. 1).
- 2) Structural dynamics of cyanobacterial thermophilic NDH-1 complexes (Ref. 2) & Cyt. *b₆f*-complex.
- 3) Strategies for designing H_2 -producing cyanobacterial model cells (Ref. 3).
- 4) Photobiological hydrogen production in green algae, cell metabolism and signaling under anaerobiosis.(Ref. 4).
- 5) Structure-function relationships of natural and semiartificial Fe-Fe hydrogenases, ferredoxins and maturases (Ref. 5+6).

【References】

1. Nowaczyk, M.M., Hebel, R., Schlodder, E., Meyer, H.E., Warscheid, B. & Rögner, M. (2006) Psb27, a cyanobacterial lipoprotein, is involved in the repair cycle of Photosystem 2 *Plant Cell* **18**, 3121-3131.
2. Nowaczyk MM, Wulfhorst H, Ryan CM, Souda P, Zhang H, Cramer WA, Whitelegge JP (2011) NdhP and NdhQ: two novel small subunits of the cyanobacterial NDH-1 complex. *Biochemistry* **50**:1121-1125

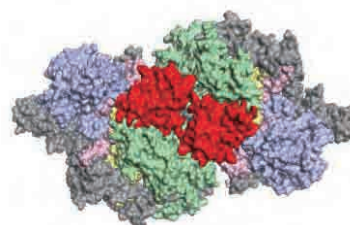


Fig. 1. Localization of the Psb27 subunits at the donor side of dimeric PS2 (lumen side). Structure of Psb27 as obtained by NMR spectroscopy was modeled onto the 3D structure of PS2 (Ferreira et al. 2004)

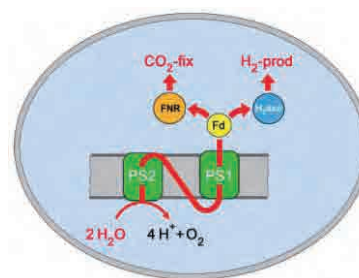


Fig. 2. Cyanobacterial design cell for hydrogen production from water. Key elements are the water-splitting complex PS2 as source of electrons and the distribution of electrons at the acceptor side of PS1 between CO_2 -fixation and H_2 -production, guided by affinity design of Fd vs. FNR and hydrogenase, respectively.

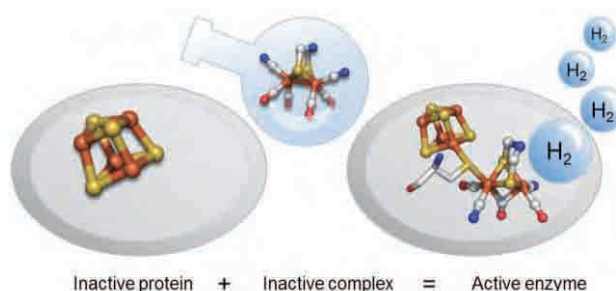


Fig.3. In vitro maturation of semiartificial [FeFe]-hydrogenase starting from inactive protein with [4Fe4S]-cluster and inactive synthetic [2Fe2S]-cluster and yielding highly active enzyme.

3. Rögner, M. (2013) Metabolic engineering of cyanobacteria for the production of hydrogen from water; *Biochemical Society Transactions* **41**, 1254-1259
4. Hemschemeier A., Düner M., Casero D., Merchant S.S., Winkler M. and Happe T. (2013) Hypoxic survival requires a 2-on-2 hemoglobin in a process involving nitric oxide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **110**: 10854-10859
5. Berggren G., Adamska A., Lambertz C., Simmons T. R., Esselborn J., Atta M., Gambarelli S., Mouesca J.-M., Reijerse E., Lubitz W., Happe T., Artero V. & Fontecave M. (2013) Biomimetic assembly and activation of [FeFe]-hydrogenases. *Nature* **499**, 66-69.
6. Esselborn J., Lambertz C., Adamska A., Simmons T., Berggren G., Noth J., Siebel J., Hemschemeier A., Artero V., Reijerse E., Fontecave M., Lubitz W. & Happe T. (2013) Spontaneous activation of [FeFe]-hydrogenases by an inorganic [2Fe] active site mimic. *Nature Chem Bio* **9**, 607-609.

国内客員研究室

招へい教授 橋本 博

連絡先 E-mail: hash@u-shizuoka-ken.ac.jp



本研究室では、X線結晶構造解析を主な手法として、DNA損傷トレランスに係わるタンパク質群の構造生物学を行っている。DNA損傷トレランスは、DNA損傷による複製の停止を回避するしくみであり、その破綻はがん化や細胞死などの原因となる。一方、DNA損傷トレランスは、がん細胞が抗がん剤抵抗性を持つ原因であり、その分子メカニズムの解明には関心が寄せられている。DNA損傷トレランスには数多くのタンパク質が関わり、ユビキチン化などの翻訳後修飾を伴う複雑な分子間相互作用で制御されている。DNA損傷トレランスには2つの経路、「損傷乗り越えDNA合成」と「テンプレートスイッチ」がある。損傷乗り越えDNA合成は、インサーターやエクステンダーと呼ばれる複数の損傷乗り越えポリメラーゼによる損傷塩基を鋳型にした一時的なDNA合成である。一方、テンプレートスイッチは、すでに合成された無傷の相補鎖を鋳型にしたDNA合成であり、複製フォークの一時的な後という相同組換えに類似した複雑な鎖交換反応を伴う。本研究では、X線結晶構造解析によって分子間相互作用を明らかにし、創薬の構造基盤を得ること

を目指す。

【研究課題】

1) DNA損傷トレランスに関わるタンパク質の構造

【文献】

1. Crystal structure of aldoxime dehydratase and its catalytic mechanism involved in carbon-nitrogen triple-bond synthesis. Nomura J, Hashimoto H, Ohta T, Hashimoto Y, Wada K, Naruta Y, Oinuma KI, Kobayashi M (2012) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **110**, 2810-2815.
2. A Missense Mutation in Rev7 Disrupts Formation of Polζ, Impairing Mouse Development and Repair of Genotoxic Agent-induced DNA Lesions. Khalaj M, Abbasi A, Yamanishi H, Akiyama K, Wakitani S, Kikuchi S, Hirose M, Yuzuriha M, Magari M, Degheidy HA, Abe K, Ogura A, Hiroshi Hashimoto H, Tetsuo Kunieda T (2014) *J. Biol. Chem.* **289**, 3811-3824.
3. A Small Molecule Inhibitor of Monoubiquitinated Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) inhibits Repair of Interstrand DNA Crosslink, enhances DNA Double-strand Break, and sensitizes Cancer Cells to Cisplatin. Inoue A, Kikuchi S, Hishiki A, Shao Y, Heath R, Evison BJ, Actis M, Canman CE, Hashimoto H, Fujii N (2014) *J. Biol. Chem.* **289**, 7109-7120.

招へい准教授 小田 彰史

連絡先 E-mail: oda@p.kanazawa-u.ac.jp



かつて、タンパク質を構成するアミノ酸はL-体のみであると考えられていた。しかし近年哺乳類のタンパク質中からD-アミノ酸が発見されている。D-アミノ酸を含むタンパク質・ペプチドとしてはβ-アミロイドやα-クリスタリン、皮膚のタンパク質などが知られており、アスパラギン酸およびセリンが特に立体反転しやすいアミノ酸であることが知られている。また、D化と同時に異性化が観察されることもあり、β-アミノ酸残基となることもある。タンパク質のアミノ酸残基の異性化はタンパク質およびペプチドの立体構造を変化させ、その機能を失わせることが報告されているが、そのような異性化は加齢に伴って起こることが知られている。従ってこれら異性化は加齢性疾患と関連している可能性が示唆されており、生体内におけるアミノ酸残基の立体反転および異性化を検討することで加齢性疾患が起こるメカニズムの解明につながることを期待できる。しかし一方でタンパク質中のアミノ酸残基の立体反転は比較的新しく発見された現象であること、またD-アミノ酸残基はタンパク質の物性に影響を与えるため実験的手法の適用が困難な場合があることから、現在のところ未解明の現象も多い。そこで計算化学的手法を用いて、アミノ酸残基の立体反転はどのようにして起こるのか、また立体反転が起こったことでタンパク質にどのような変化が起こるのかを推定したいと考えている。たとえばアミノ酸残基の立体反転に必要な周辺環境を推測することでどのようなタンパク質のどのような部位で立体反転が起こるのかを予測し、立体反転が起こることで立体構造がど

のように変化するかを推定する。そしてタンパク質中のD-アミノ酸残基の働きについて統一的な知見を得ることを期待している。

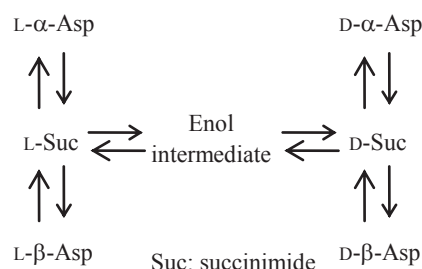


Fig. 1 Stereoinversion of Asp.

【研究課題】

1) タンパク質中のD-アミノ酸残基の起源および役割についてのin silico解析

【文献】

1. Molecular-dynamics simulations for amyloid β₁₋₄₂ monomer with D-aspartic acid residues using continuous solvent. Oda, A., Kobayashi, K., Takahashi, O. (2010) *Chem. Biodivers.* **7**, 1357-1363.

月原研究グループ

客員教授 月原 富武

連絡先 Tel: 06-6879-4331; Fax: 06-6879-4331
E-mail: tsuki@protein.osaka-u.ac.jp



生体内には蛋白質をはじめ数多くの生体物質が原子レベルの正確さで構造制御して、精巧な働きをしている。これらの高度に制御された働きによって、生命が支えられている。我々は、分子量が数十万の蛋白質から数千万を超える蛋白質、核酸等の生体超分子を対象にして、X線結晶構造解析の方法を極めて生命現象の原子機構を明らかにすることを目指している。

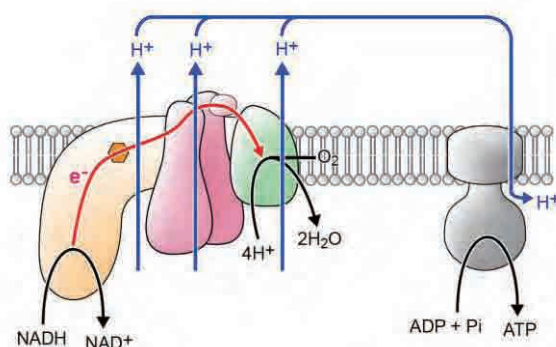


図1：ミトコンドリア内膜の呼吸鎖超複合体とATP合成酵素。プロトンポンプに関わる呼吸鎖複合体I, III, IVはミトコンドリア内膜において超複合体を形成して機能していると考えられている。超複合体形成によってプロトンポンプの効率化、有害なスーパーオキシドの産生を抑制している。超複合体の構造決定を目指して、その結晶化に取り組んでいる。

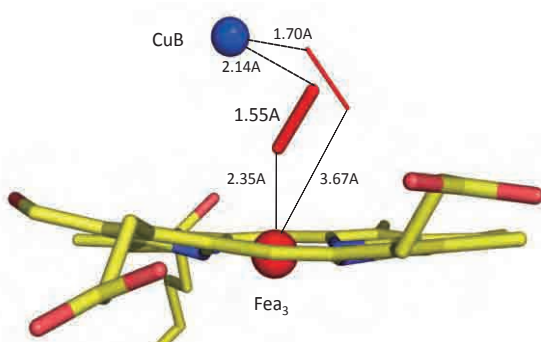


図2：X線無損傷構造解析によって構造決定したチトクロム酸化酵素の酸素還元中心の構造。SACLAのX線自由電子レーザーを用いて、酸化型チトクロム酸化酵素のX線無損傷構造解析を行った。酸素還元中心にはO-O結合距離が1.55 Åの過酸化物が主部位に95%と副部位に5%存在する事が明らかになった。この事によって数十年来懸案になっていた酸素還元中心の化合物は過酸化陰イオンである事が確定した。

【研究課題】

- 1) ミトコンドリアの構造生命科学
- 2) 細胞内、細胞間の情報・物質輸送機構
- 3) X線自由電子レーザーによる動的結晶構造解析法の開発

【文献】

1. Structures of metal sites of oxidized bovine heart cytochrome c oxidase at 2.8 Å. Tsukihara *et al.* (1995) *Science* **269**, 1069-1074.
2. The whole structure of the 13-subunit oxidized cytochrome c oxidase at 2.8 Å. Tsukihara *et al.* (1996) *Science* **272**, 1136-1144.
3. Redox-coupled crystal structural changes in bovine heart cytochrome c oxidase. Yoshikawa *et al.* (1998) *Science* **280**, 1723-1729.
4. The low-spin heme of cytochrome c oxidase as the driving element of the proton-pumping process. Tsukihara *et al.* (2003) *PNAS*. **100**, 15304-15309.
5. The proton pumping pathway of bovine heart cytochrome c oxidase. Shimokata *et al.* (2007) *PNAS*. **104**, 4200-4205.
6. A peroxide bridge between Fe and Cu ions in the O₂ reduction site of fully oxidized cytochrome c oxidase could suppress the proton pump. Aoyama *et al.* (2009) *PNAS*. **106**, 2165-2169.
7. The structure of rat liver vault at 3.5 angstrom resolution. Tanaka *et al.* (2009) *Science* **323**, 384-388.
8. Structure of the connexin 26 gap junction channel at 3.5 Å resolution. Maeda *et al.* (2009) *Nature* **458**, 597-602.
9. A high-resolution structure of the pre-microRNA nuclear export machinery. Okada *et al.* (2009) *Science* **326**, 1275-1279.
10. Bovine cytochrome c oxidase structures enable O₂ reduction with minimization of reactive oxygens and provide a proton-pumping gate. Muramoto *et al.* (2010) *PNAS*. **107**, 7740-7745.
11. Distinguishing between Cl⁻ and O₂(2-) as the bridging element between Fe³⁺ and Cu²⁺ in resting-oxidized cytochrome c oxidase. Suga *et al.* (2011) *Acta Cryst.*, **D67**, 742-744.
12. Structural studies of large nucleoprotein particles, vaults. Tanaka and Tsukihara, (2012) *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci.*, **88**, 416-33.
13. New features of vault architecture and dynamics revealed by novel refinement using the deformable elastic network approach. Casañas *et al.* (2013) *Acta Cryst.*, **D69**, 1054-61.
14. A mechanism of gap junction docking revealed by functional rescue of a human disease-linked connexin mutant. Gong *et al.* (2013) *D. J Cell Sci.*, **126**, 3113-3120.

附属蛋白質解析先端研究センター

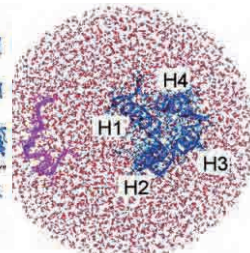
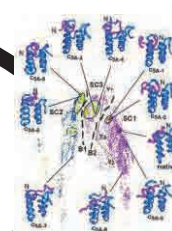
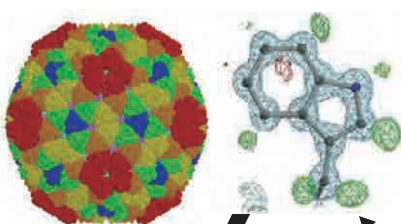
附属蛋白質解析先端研究センター

Research Center for State-of-the-art Functional Protein Analysis

本センターの前身であるプロテオミクス総合研究センターは、プロテオミクス研究とデータベース運営を通じた情報発信、そして産業創生の推進のために 2002 年から 10 年間の期限で設立された。2012 年 4 月に蛋白質研究所は、時代の要請に応じてその活動を見直し、プロテオミクス研究だけでなく、より広く革新的な蛋白質研究の手法や装置を開発し、独創性の高い研究を推進する国際拠点を確立するため、新たな組織として附属蛋白質解析先端研究センターを設置した。本センターは、機能・発現プロテオミクス研究室、分子創製学研究室、超分子構造解析学研究室、蛋白質情報科学研究室、先端計測研究室、データベース開発研究室、産学・国際連携研究室内の 7 つの研究室を擁し、それぞれが独創的な蛋白質科学研究および様々な技術開発を行うとともに、蛋白質研究所本体からの兼任教員も含めた体制によって分子解析支援、データベースの構築・運営、産業創生のためのオープンスペースラボの活用、などを通して内外の蛋白質科学研究コミュニティのハブとなる役割を果たしている。

超分子構造解析学研究室

蛋白質情報科学研究室



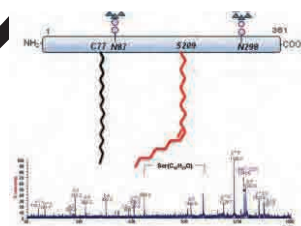
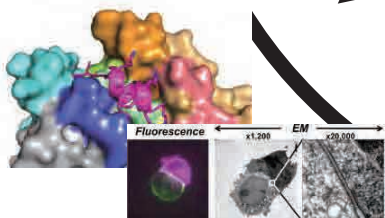
先端計測
研究室

データ ベース
開発研究室

産学・国際
連携研究室

分子創製学研究室

機能・発現プロテオミクス 研究室



機能・発現プロテオミクス研究室

教授 高尾 敏文

連絡先 Tel: 06-6879-4312; Fax: 06-6879-4332
E-mail: tak@protein.osaka-u.ac.jp



本研究室は、高感度、短時間で分析が可能な質量分析法は、様々な生体内微量蛋白質のアミノ酸配列や翻訳後修飾の解析に利用されてきている。最近では、蛋白質や遺伝子データベースの充実に伴って、質量分析計を用いて生体内の総発現蛋白質を網羅的に解析し、様々な生理的現象を解明しようというプロテオミクス研究が盛んに行われるようになった。我々は、質量

分析によるペプチド・蛋白質の一次構造解析のための化学・分析的手法やそれに関連する装置、そして、質量スペクトルを確度よく解析するためのソフトウェアの開発、整備を行っている。また、それらを用いて新規蛋白質の同定や種々の蛋白質翻訳後修飾の構造解析にも取り組んでいる。

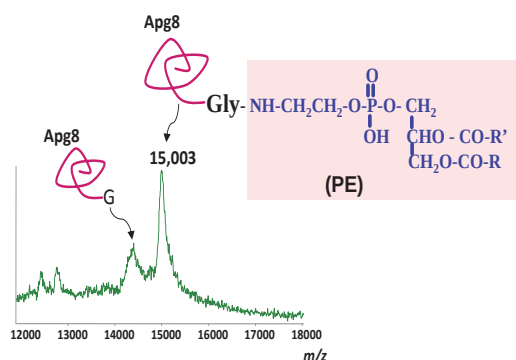


図1：蛋白質 (Apg8) C末端のフォスファチジルエタノールアミン (PE) による翻訳後修飾。 (Nature 408, 488-492, 2000).

【研究課題】

- 1) 質量分析による蛋白質一次構造解析のための化学的手法、及び、解析ソフトウェアの開発
- 2) 質量分析による蛋白質翻訳後修飾の構造解析
- 3) プロテオミクス研究のための分析的手法や尿等の生体試料の前処理、同定法の開発
- 4) 質量分析におけるペプチド、糖鎖のフラグメンテーションに関する研究
- 5) 高感度／高精度質量分析のためのハードウェアの開発

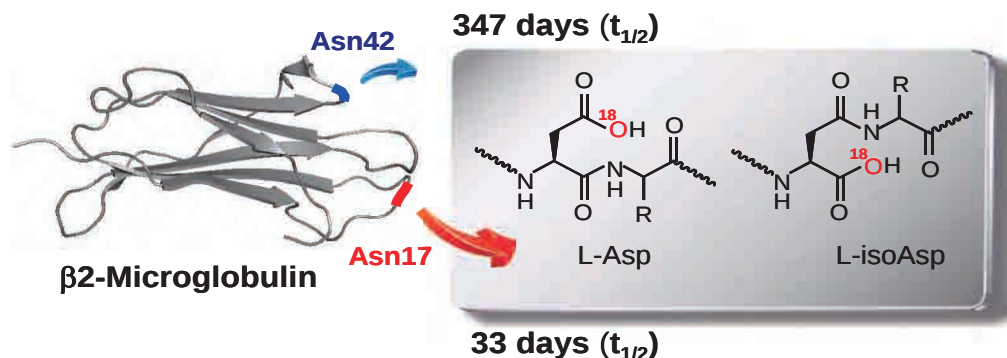


図2：安定同位体 ^{18}O 標識による $\beta 2$ -ミクログロブリンの脱アミド化及び異性化反応の検出 (Anal. Chem., 2012)

【文献】

1. Yamamoto H, Awada C, Hanaki H, Sakane H, Tsujimoto I, Takahashi Y, Takao T, Kikuchi A.: The apical and basolateral secretion of Wnt11 and Wnt3a in polarized epithelial cells is regulated by different mechanisms. *J Cell Sci.* (2013).
2. Imura M, Okumura N, Kose S, Takao T, Imamoto N: Identification of cargo proteins specific for importin- β with importin- α applying a stable isotope labeling by amino acids in cell culture-based in vitro transport system. *J Biol Chem* (2013)
3. Kimura M, Kose S, Okumura N, Imai K, Furuta M, Sakiyama N, Tomii K, Horton P, Takao T, Imamoto N: Identification of cargo proteins specific for the nucleocytoplasmic transport carrier transportin by combination of an in vitro transport system and stable isotope labeling by amino acids in cell culture-based quantitative proteomics. *Mol Cell Proteomics* (2013).
4. Aoki M, Suto K, Komastu M, Kamimura A, Morishita K, Yamasaki M, Takao T: Increasing effect of an oral intake of L-Hyp on the soluble collagen content of skin and collagen fragments in rat serum. *Biosci Biotechnol Biochem.* (2012)
5. Fukuda M, Takao T: Quantitative Analysis of Deamidation and Isomerization in $\beta 2$ -Microglobulin by ^{18}O Labeling. *Anal. Chem* (2012)
6. Mikami T, Takao T, Yanagi K, Nakazawa H. $\text{N}\alpha$ selective acetylation of peptides. *Mass Spectrometry* (2012)

分子創製学研究室

教授	高木 淳一
准教授	岩崎 憲治
助教	北郷 悠
特任助教	松永 幸子
特任助教	海津 正賢
技術専門職員	川上 恵子



連絡先 Tel: 06-6879-8607; Fax: 06-6879-8609; E-mail: takagi@protein.osaka-u.ac.jp

当研究グループでは、「生体膜」近傍での生物学的現象を蛋白質構造化学の目で切り取り、生物学研究の新たなステージを切り開くため、最新の構造生物学的手法を駆使した研究を行っている。細胞は外からの刺激を受容してその情報を細胞内で処理し、外的環境にたいしてどう対処するかを決定するが、ここで対象とするのは、ヒトの疾患に関わる種々の膜蛋白質、特に、脳・神経系で働く受容体やシナプス構成因子、神経細胞死や軸索ガイダンスに関わる分子、生物の発生や形態形成に関わるシグナル分子などの蛋白質である。レセプターが細胞外でその特異的パートナー（リガンド）と結合する際に起こる構造上の変化を「可視化」することが求められるが、そのために当研究室で用いる構造生物学的手法は X 線結晶構造解析と電子顕微鏡イメージングである。それらに用いるタンパク質試料の調製（発現と精製）や、巨大で不安定な複合体を結晶化する技術にはまだ改良の必要な点が多くある。たとえばヒトを含む高等生物の細胞外リガンドやその受容体は組み替え発現・精製が困難で有り、既存の生産システムに依存しては、国際的な競争に勝つことができない。そこで、困難な組み替えタンパク質の「生産」を、動物細胞培養系の高度化、新しいアフィニティタグシステムの開発、発現法の改良・開発、などを通して確立することを目指している。また、電子顕微鏡イメージングについては、そのポテンシャルを最大限に引き出すための基盤技術、特に試料調製と解析技術の開発に力を入れている。このように、当研究グループでは、個々の生物学的課題を解明する研究と平行して技術開発にも同様に力をいれ、「欲しい技術は自ら開発する」という哲学のもとに、「構造から機能に迫る」研究を目指している。

【研究課題】

- 1) 細胞接着因子や神経系の分化・形態形成因子、及びそのレセプター細胞外領域の構造・機能解析
- 2) 構造情報を元にした新規蛋白質分子の創製
- 3) 電顕、光顕、X 線など複数の手法を組み合わせた「相関構造解析法」の開発
- 4) 「高難度」蛋白質の発現と精製、およびそのための独自のツール開発
- 5) 電子顕微鏡イメージングによる不均一な構造の三次元可視化

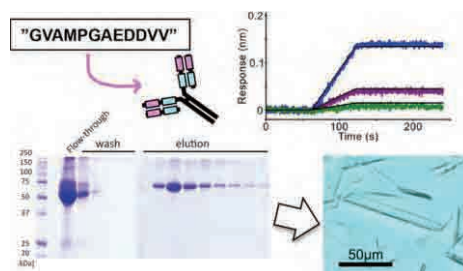


図1：超高親和性アフィニティ精製システム“PA タグ”の開発

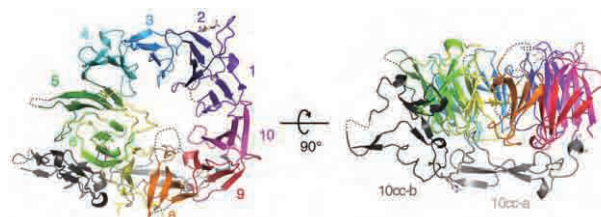


図2：アルツハイマー病から脳を守る蛋白質 SORLA の Vps10p ドメインの X 線結晶構造

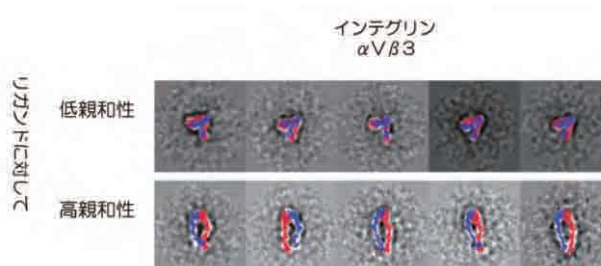


図3：2-D ハイブリッド解析法；理論的な計算による 2 次元電顕像への結晶構造のフィッティング

【文献】

1. PA tag: a versatile protein tagging system using a super high affinity antibody against a dodecapeptide derived from human podoplanin. Fujii, Y., et al. (2014) *Protein Exp. Purif.* 95, 240-247.
2. Novel role for SORLA/SORL1 as lysosomal sorting receptor for amyloid- β peptide is impaired by familial Alzheimer disease mutation. Caglayan S, T et al. (2014) *Science Transl. Med.*, 6, 223ra20.
3. A multi-purpose fusion tag derived from an unstructured and hyper-acidic region of the amyloid precursor protein. Sangawa T, et al (2013) *Protein Sci.*, 22., 840-850.
4. A point mutation in Semaphorin 4A associates with defective endosomal sorting and causes retinal degeneration. Nojima S, et al. (2013) *Nature Commun.* 4:1406.

超分子構造解析学研究室

教授	中川 敦史
准教授	鈴木 守
助教(兼)	山下 栄樹
助教	天野 まゆみ
特任助教	竹下 浩平
特任助教(兼)	東浦 彰史



連絡先 Tel: 06-6879-8635; Fax: 06-6879-4313; E-mail: atsushi@protein.osaka-u.ac.jp

生体超分子複合体は、個々のタンパク質／核酸コンポーネントが会合することによって初めてその機能を持つため、個々のコンポーネントではなく、超分子複合体全体の立体構造を決定することが重要である。本研究室では、イネ萎縮ウイルス、超好熱菌由来ウイルス様粒子、緑膿菌の薬剤排出タンパク質複合体、核輸送複合体といった生体超分子複合体や脳・神経系関連タンパク質など生物科学的に興味のあるタンパク質の立体構造決定を行うと同時に、SPRING-8の生体超分子構造解析ビームラインや自由電子レーザーの利用を中心とした、生体超分子複合体のX線結晶構造解析のための新たな方法論の開発を行っている。

【研究課題】

- 1) 生体超分子複合体およびタンパク質のX線結晶構造解析
- 2) 放射光および自由電子レーザーを利用した生体超分子複合体の構造解析法の開発
- 3) 微小結晶からのデータ処理技術の開発



図1: SPRING-8の生体超分子複合体構造解析ビームライン (SPRING-8 BL44XU)。SPRING-8の高輝度なアンジュレタ光を利用して、ウイルスや蛋白質複合体などの巨大な生体超分子複合体結晶からの高精度なデータ収集を行うことができるように設計された実験ステーション。全ユーザータイムの約50%が共同利用に供されている。

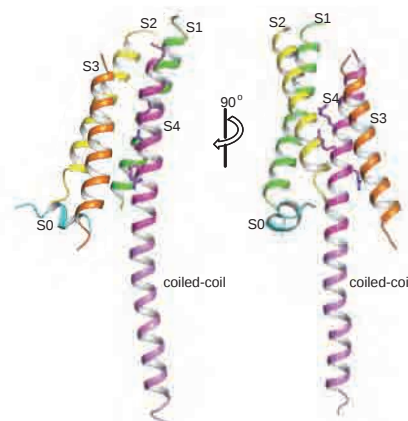


図2: 電位依存性プロトンチャネル (VSOP/Hv1) の立体構造。細胞膜内外の電位差(膜電位)によりプロトンの流れを制御する電位依存性プロトンチャネルの構造をX線結晶構造解析により決定した。これは、電位センサー蛋白質ファミリーとして初めての静止状態の構造であり、電位センサーの動作機構を理解する上で重要な知見を得ることができた。また、亜鉛イオンの結合による制御機構を明らかにすることができた。

【文献】

1. X-ray crystal structure of voltage-gated proton channel. Takeshita K, Sakata S, Yamashita E, Fujiwara Y, Kawanabe A, Kurokawa T, Okochi Y, Matsuda M, Narita H, Okamura Y, Nakagawa A (2014) *Nature Struct. Mol. Biol.* **21**, 352-357.
2. High-resolution X-ray crystal structure of bovine H-protein using the high-pressure cryocooling method. Higashiura A, Ohta K, Masaki M, Sato M, Inaka K, Tanaka H, Nakagawa A (2013) *J Synchrotron Rad.* **20**, 989-993.
3. A new protein complex promoting the assembly of Rad51 filaments. Sasanuma H, Tawaramoto MS, Lao JP, Hosaka H, Sanda E, Suzuki M, Yamashita E, Hunter N, Shinohara M, Nakagawa A, Shinohara A (2013) *Nature Commun.* **4**, 1676.
4. Crystal structure of the C-terminal domain of Mu phage central spike and functions of bound calcium ion. Harada K, Yamashita E, Nakagawa A, Miyafusa T, Tsumoto K, Ueno T, Toyama Y, Takeda S (2013) *Biochim. Biophys. Acta Protein Proteomics* **1834**, 284-291.

蛋白質情報科学研究室

教授 中村 春木
准教授 金城 玲
助教 鷹野 優
技術専門職員 小佐田 高史



連絡先 Tel: 06-6879-4310; Fax: 06-6879-4310; E-mail: harukin@protein.osaka-u.ac.jp

本研究室は、蛋白質情報科学研究として、下記の研究を推進している。(1)蛋白質モデリングと設計等の構造バイオインフォマティクス研究、(2)新規データベースやウェブサービスの開発、(3)並列計算機やGPUを利用した大規模分子シミュレーション計算によって得られる自由エネルギー地形解析に基づく蛋白質フォールディングや蛋白質複合体形成機構の解明、(4)金属蛋白質の電子状態計算による、電子伝達機構の解明。

【研究課題】

- 1) 蛋白質の構造と相互作用を解析・予測するバイオインフォマティクス研究
- 2) 蛋白質および蛋白質・基質複合体の構造とエネルギーを数値シミュレーションによって得るための統計力学的アルゴリズムの開発と、量子化学と古典力学の連成計算を含む分子シミュレーションの実施

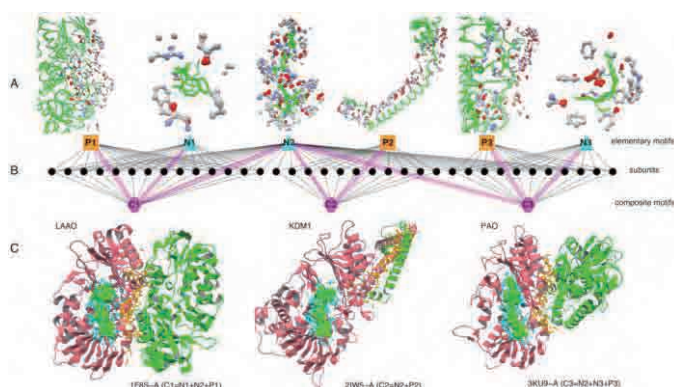


図1：蛋白質の生物学的機能を記述する基質結合部位のコンポジット構造モチーフ。低分子、蛋白質、核酸を含む蛋白質の基質に対する既知の基質結合部位構造に対し、しらみつぶ的に全ての局所構造比較を行って、まず基本的な構造モチーフを同定した。次に、蛋白質の各サブユニットに属するそれら基本的構造モチーフの組み合わせによって、複合モチーフを定義した。蛋白質のアミノ酸配列や個々の結合部位の構造よりも、この複合モチーフの類似性が、蛋白質の機能の類似性を良く表していることが示された。A: サブユニット B に対応する基本的構造モチーフの例。この基本的構造モチーフは球と棒モデル (CPK カラー) で示し、基質は緑色で示す (ワイヤーモデルは低分子、パイプは蛋白質)。C: B に対応する複合モチーフの例。3つの複合モチーフは、どれも同一のFAD結合の基本的構造モチーフ (N2) を共有している (文献1)。

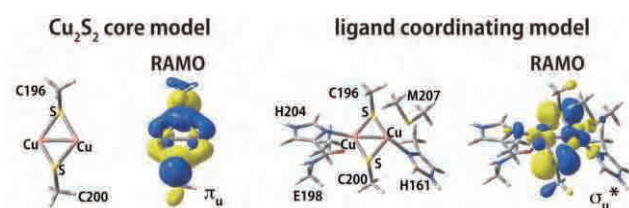


図2：シトクロム酸化酵素における Cu_2S_2 コアと CuA サイトの基質配位モデルの分子構造と酸化還元活性分子軌道 (RAMOs) (文献3)。

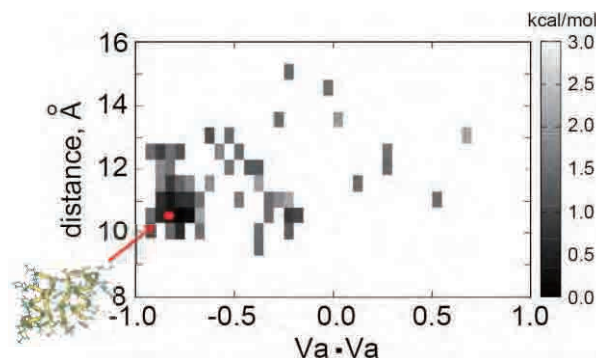


図3：300 Kにおけるエンドセリン-1人工変異体の2量体形成のあらわな溶媒下でのマルチカノニカル分子動力学計算による自由エネルギー地形。横軸は各単量体の α -ヘリックスに沿った単位ベクトル間の内積で、縦軸は単量体の重心間の距離を示す。赤い点は結晶構造に対応する (文献4)。

【文献】

1. Composite structural motifs of binding sites for delineating biological functions of proteins. Kinjo AR, Nakamura H (2012) *PLoS One* 7, e31437.
2. Exhaustive comparison and classification of ligand-binding surfaces in proteins. Murakami Y, Kinoshita K, Kinjo AR, Nakamura H (2013) *Protein Science* 22, 1379-1391.
3. Electronic Structures of the Cu_2S_2 Core of the CuA Site in Cytochrome c Oxidase and Nitronous Oxide Reductase. Takano Y, Shigeta Y, Koizumi K, Nakamura H (2012) *Int. J. Quantum. Chem.* 112, 208.
4. A virtual-system coupled multicanonical molecular dynamics simulation: Principles and applications to free-energy landscape of protein-protein interaction with an all-atom model in explicit solvent.. Higo J, Umezawa K, Nakamura H (2013) *J. Chem. Phys.* 138, 184106.
5. Simple and Accurate Scheme to Compute Electrostatic Interactions: Zero-dipole Summation Technique for Molecular System and Application to Bulk Water. Fukuda I, Kamiya N, Nakamura H (2012) *J. Chem. Phys.* 137, 054314.
6. Molecular Dynamics Simulations Accelerated by GPU for Biological Macromolecules with a Non-Ewald Scheme for Electrostatic Interactions. Mashimo T, Fukunishi Y, Kamiya N, Takano Y, Fukuda I, Nakamura H (2013) *J. Chem. Theory Comput.* 9, 5599-5609.

先端計測研究室

教授 (兼)	中川 敦史
教授 (兼)	高木 淳一
教授 (兼)	高尾 敏文
准教授 (兼)	岩崎 憲治
講師	佐藤 毅
助教	山下 栄樹
助教	三村 直稔
助教	杉木 俊彦
助教	武藤 梨沙
特任助教	東浦 彰史
技術専門職員 (兼)	乗岡 尚子
技術専門職員 (兼)	川上 恵子
技術職員 (兼)	阿部 直行

連絡先 E-mail: atsushi@protein.osaka-u.ac.jp

本研究室は、革新的な蛋白質研究の計測技術や装置の開発を通して、独創性が高い、より広い研究分野に寄与することを目指している。特に蛋白質研究所が得意とする技術開発とその利用を進めるために、高磁場核磁気共鳴装置による構造解析を進める NMR 構造解析



グループ、SPring-8 の高輝度放射光を利用した X 線結晶構造解析法を進める放射光解析グループ、電子顕微鏡を利用した構造解析を行う電子線解析グループ、さらに質量分析法などを用いた化学構造解析を支援する分子解析グループから構成されている。

先端計測研究室

放射光解析グループ (中川、山下、東浦)

連絡先 Tel: 06-6879-8635; Fax: 06-6879-4313

E-mail: bladmin@protein.osaka-u.ac.jp

本研究グループは、SPring-8 の生体超分子複合体構造解析ビームライン (蛋白研ビームライン: BL44XU) の超高輝度放射光を利用した生体超分子複合体の X 線結晶構造解析法の開発とビームラインの高度化ならびに維持・管理を通して、微小結晶しか得られない不安定な膜蛋白質や巨大な生体超分子複合体をターゲットとした構造生物学研究を進めている。

【研究課題】

- 1) 生体超分子複合体構造解析ビームラインの高度化・管理・運営
- 2) 高輝度放射光を利用した X 線結晶構造解析法の開発
- 3) 膜蛋白質や生体超分子複合体結晶を中心とした生体分子の構造解析

【文献】

1. Quinone-dependent proton transfer pathways in the photosynthetic cytochrome *b₆f* complex. Hasan SS, Yamashita E, Baniulis D, Cramer WA (2013) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **110**, 4297-4302.



SPring-8 の生体超分子複合体構造解析ビームライン

(SPring-8 BL44XU). SPring-8 の高輝度なアンジュレータ光を利用して、ウイルスや蛋白質複合体などの巨大な生体超分子複合体結晶からの高精度なデータ収集を行うことができるように設計された実験ステーション。全ユーザータイムの約 50% が共同利用に供されている。

2. High-resolution X-ray crystal structure of bovine H-protein using the high-pressure cryocooling method. Higashiura A, Ohta K, Masaki M, Sato M, Inaka K, Tanaka H, Nakagawa A (2013) *J. Synchrotron Rad.* **20**, 989-993.

先端計測研究室

NMR 構造解析グループ (杉木、武藤、三村)

連絡先 Tel: 06-6879-4417; Fax: 06-6879-8599

E-mail: sugiki@protein.osaka-u.ac.jp

本研究グループは、核磁気共鳴 (NMR) 分光法を用いて、タンパク質やペプチドなどの生体分子の立体構造および分子間相互作用様式を解明し、その生物学的機能を明らかにする研究を進めている。NMR 分光法は分子の揺らぎの速度論的解析も可能であるため、生体分子が機能を発揮するうえで重要である立体構造、分子間相互作用、分子の運動性の全てを分子レベルで且つ定量的に解析することができる。

【研究課題】

- 1) アミノ酸選択的安定同位体技術を応用した新規 NMR 解析法など、様々な先端計測・解析法の開発
- 2) X 線結晶構造解析を併用した巨大分子複合体の NMR 解析
- 3) In-cell NMR 測定のための基盤技術開発
- 4) 重篤な遺伝性疾患ラミノパシーを引き起こす変異型テラミンタンパク質の NMR 解析



950 MHz (写真左) および 800 MHz (写真右) NMR 分光装置。超伝導電磁石と極低温プローブの装備により、この 950 MHz NMR 分光装置は平均的な 400 MHz NMR 分光装置に比べて感度が約 17 倍高く、低濃度試料もしくは安定同位体による標識を施していない試料の測定も可能となっている。

【文献】

1. Structural basis for the Golgi association by the pleckstrin homology domain of the ceramide trafficking protein (CERT). Sugiki *et al.* (2012) *J. Biol. Chem.* **287**, 33706-33718.
2. The ATP-mediated regulation of KaiB-KaiC interaction in the cyanobacterial circadian clock. Mutoh *et al.* (2012) *PLoS ONE* **8**, e80200.

先端計測研究室

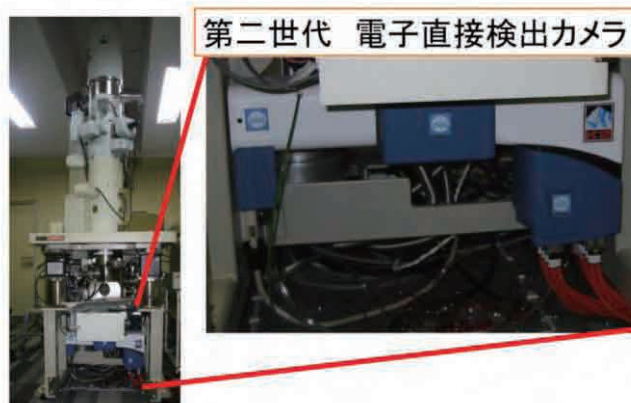
電子線解析グループ (高木、岩崎)

連絡先 Tel: 06-6879-8607; Fax: 06-6879-8609

E-mail: takagi@protein.osaka-u.ac.jp

本研究グループは、最新鋭の電子直接検出カメラとエネルギーフィルターを備えたクライオ電子顕微鏡を使用して、蛋白質が機能している状態の構造解析や、オルガネラ・細胞レベルの分子集合体アーキテクチャーを原子構造情報から理解することを目指し、以下の三本の柱を研究課題に据えている。

- 1) 精製蛋白質の構造を電子顕微鏡画像のみから、単粒子再構成法を用いて原子構造解析する技術を新型の電子直接検出カメラを用いて開発する。
- 2) 細胞や組織の形態観察を超えた、よりインフォーマティブな観察技術を電子顕微鏡イメージング法とその周辺技術の開発によって成し遂げる。その一つが、最新のテクノロジーとともに蘇った電子線トモグラフィー技術である。現在、ターゲット分子のラベル技術開発が待望されている。
- 3) 計算機シミュレーションや生化学、X 線結晶構造解析、光学顕微鏡等との相関を利用したハイブリッドな解析方法を開発することで、電子顕微鏡イメージング技術をより高次情報取得のためのツールとして役立てる。



最新鋭の電子直接検出カメラとエネルギーフィルターを備えたクライオ電子顕微鏡。

【文献】

1. Miyazaki, N., Nakagawa, A., and Iwasaki, K. (2013). Life cycle of phytoreoviruses visualized by electron microscopy and tomography. *Front. Microbiol.*, **4** (306), 1-9.

先端計測研究室

分子解析グループ

(高尾、中川、高木、佐藤、乗岡、川上、阿部)

連絡先 Tel: 06-6879-4324 ; Fax: 06-6879-4332

E-mail: procise@protein.osaka-u.ac.jp

本研究グループは、蛋白質の化学構造解析を担当している。このために、汎用性の高い質量分析装置やペプチドシーケンサーおよびそれらの周辺機器を備え、研究所内外の研究者の支援業務として、各種蛋白質の構造解析を行っている。今日では、組換え蛋白質を用いて様々な構造・機能研究が行われているが、試料蛋白質の化学的性状の情報を明確にする必要性が高い。このような品質管理を、多くの事例を集積しながら分析法の一般化を確立するとともに、解析技術の高度化を目指している。



MALDI-TOF Mass Spectrometer



Peptide Sequencer

データベース開発研究室

教授 (兼)	中村 春木
教授 (兼)	藤原 敏道
教授 (兼)	関口 清俊
准教授 (兼)	金城 玲
准教授 (兼)	児嶋 長次郎
技術専門職員 (兼)	小佐田 高史

連絡先 Tel: 06-6879-4311; Fax: 06-6879-8636; E-mail: harukin@protein.osaka-u.ac.jp

本研究室では、蛋白質立体構造データベース (PDB) の構築・高度化と統合化を日本蛋白質構造データバンク (PDBj) として実施する一方、NMR 実験情報データバンク (BMRB)、マウス基底膜ボディーマップ・データベース (Matrixome)、ケンブリッジ構造データベース (CSD) の開発と運営を行っている。

データベース開発研究室・

PDBj グループ（中村、金城、小佐田）

連絡先 Tel: 06-6879-4311; Fax: 06-6879-8636

E-mail: nahokoh@protein.osaka-u.ac.jp

URL: <http://pdbj.org/>

PDBj では、wwPDB (worldwide PDB: <http://wwpdb.org>) と協力して、蛋白質や核酸等の生体高分子の 3 次元原子構造のデータベース構築と公開作業を実施している。さらに、構造生物学に興味を持つ研究者や学生に対して種々のサービスを web 上で公開している。

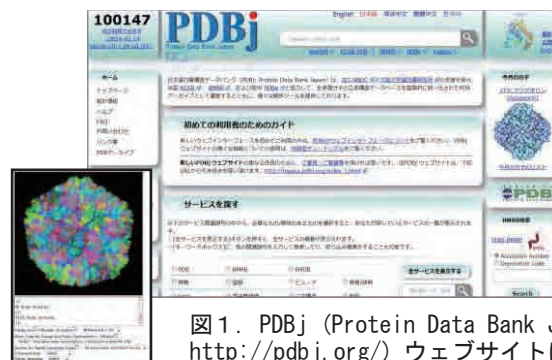


図 1. PDBj (Protein Data Bank Japan: <http://pdbj.org/>) ウェブサイトにおける各蛋白質事毎の概要ページ

データベース開発研究室

PDBj-BMRB グループ（藤原、児嶋）

連絡先 Tel: 06-6879-8598; Fax: 06-6879-8599

E-mail: bmrhelp@protein.osaka-u.ac.jp

URL: <http://bmrdep.protein.osaka-u.ac.jp>



核磁気共鳴 (NMR) 法は生体高分子の構造と機能を調べる重要な方法である。この NMR 法のデータベース BMRB を米国 BMRB などと協力して運営している。図 2 に示したインターネット・サイトを通じて、データの登録や、データおよび解析ツールの公開を行い世界の生体系 NMR 利用者の研究に貢献している。

図 2. PDBj-BMRB のホームページ (Protein Data Bank Japan - BioResMagBank: <http://bmrdep.protein.osaka-u.ac.jp/>).

データベース開発研究室

Matrixome グループ（関口）

連絡先 Tel: 06-6879-8617; Fax: 06-6879-8619

E-mail: matrixome@protein.osaka-u.ac.jp

URL: <http://www.matrixome.com/bm>

本研究グループは、生体内における細胞外マトリックス蛋白質、特に基底膜蛋白質の局在を可視化した画像データベースを作成・公開している (Mouse Basement Membrane Bodymap)。マウス胎仔の全身切片を自在に移動・拡大縮小しながら観察できる高解像度の“バーチャルスライド”によって、40種類以上の蛋白質の局在パターンを詳細に観察することができる。



図 3. Mouse Basement Membrane Bodymap データベース (<http://www.matrixome.com/bm>) のウェブページ

ケンブリッジ構造データベース・グループ（中村）

CSD (Cambridge Structural Database) Group

Haruki NAKAMURA

連絡先 Tel: 06-6879-4311; Fax: 06-6879-8636

E-mail: ynatsuko@protein.osaka-u.ac.jp

URL: <http://www.protein.osaka-u.ac.jp/csd/csd.html>

ケンブリッジ結晶構造データベース (CSD) は、英国ケンブリッジ結晶学データセンター (CCDC) が構築している低分子量の有機化合物、有機金属化合物の結晶構造データベースであり、日本のアカデミアグループ利用者への窓口業務・配布サービスを行っている。また、阪大内外のからアクセスできる CSD のポータルも提供している。

産学・国際連携研究室

客員教授 上村みどり

連絡先 Tel: 042-586-8283; Fax: 042-586-8219
E-mail: m.kamimura@teijin.co.jp



本研究室は、現在各公共機関や大学で実施されているアカデミック創薬と製薬企業の創薬の双方で利用できる技術の開発および DB の構築をめざしている。創薬を進めるにあたって、初期段階で一番重要と考えられる(1)どのようにしてヒット化合物を選択するか、(2)どのようにして、創薬ターゲットを選択するか(3)化合物とターゲットとの弱い相互作用検出するかが重要である。最終的には、その相互作用の DB 化をめざして、蛋白研内の蛋白質研究所の関連部門(機能構造計測学系、データベース開発研究室等)と協力しアカデミックおよび産業界双方で利用できる技術基盤を開発し、これらの手法の確立を進めることを目標としている。

創薬への第一歩は、良質の化合物を選択し出発することである。良質な化合物というのは、単に生物学的活性が高いというだけでなく、物理化学的にも安定で、創薬ターゲットに対して、熱力学的に安定に存在するような化合物を選択することが重要である。最近では、フラグメント創薬といわれる分子量が 250 以下の小さい化合物を出発物質から出発し臨床開発化合物に仕上げる方法が着目されている。この場合、成功の鍵は、最初の活性は、弱くとも伸びしろのあるしかも薬の一部として利用できる化合物をいかに選択できるかにある。

一方、グローバルにはパブリックに利用できる ChEMBL のような大規模な DB が充実してきており、生物活性データについては、動態、毒性のデータも含め徐々に増えてはきているが、物理化学的な相互作用データについては、信頼できる相互作用の DB はほとんどない。これができれば、実際の創薬現場におけるヒット探索にも大きく役立つという点では、Protein Data Bank 等に匹敵する重要な DB となりうる。そこで、当課題に対し、特に相互作用については、感度の高い NMR を用いてフラグメントと蛋白質の相互作用をディテクトしたいと考えた。また、NMR によるスクリーニングにおいて、最大の課題であるスループットを改良するために、特徴的な化学シフトを示す ^{19}F NMR を用いて検出法を利用でき、しかも医薬品にもパーツとして重要な含フッ素フラグメントライブラリーを構築することにした。初年度は、 ^{19}F の化学シフトが重複しないように化合物を first set として 125 化合物を in silico で化合物を選択し実際の溶解度が満足できるか、何化合物まで混ぜることができるかなどを検討し、実際にテストタンパク質を用いて検証した。図 1 には、これらのフラグメントカクテルの ^{19}F ピークをタンパク質の存在の有無で示したものである。矢印で示し

たように、ターゲット蛋白質と相互作用したピークのみ、明らかに消失していることが見出された。本年度は、first set で得られた溶解度や、ピークの分離などで課題と見られた構造を避け、新たに 125 化合物を second set として加える。これらについて、蛋白研保有の創薬ターゲット対象として可能性のあるタンパク質に対して、相互作用を検出し、そのプロファイルを確認していきたい。将来的には、このフラグメントライブラリーに市販されていないタンパク質オリジナルの合成化合物も付け加えることにより、産学両方で利用できる化合物ライブラリーができあがるとともに、蛋白研究所の技術優位分野である固体 NMR を利用した膜タンパク質に対するフラグメントの相互作用検出にも拡張できる検出技術の確立できると考えている。

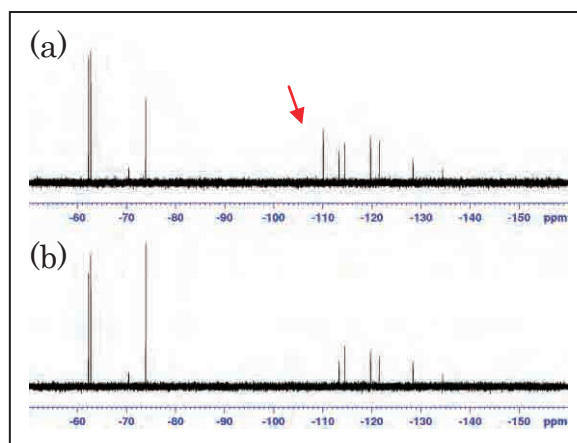


図 1. ^{19}F peaks of a cocktail of compounds without test protein (a) and with test protein (b)

【研究課題】

タンパク質とリガンドの物理化学的相互作用 DB

【文献】

1. Fragment Based Drug Discovery: Practical Implementation Based on ^{19}F NMR Spectroscopy
Jordan, JB et al, J. Med. Chem (2012) 55, 678–687
2. Fluorinated Carbohydrates as Lectin Ligands: Versatile Sensors in ^{19}F -Detected Saturation Transfer Difference NMR Spectroscopy
Direcks, T et al, Chem. Eur. J.(2009) 15, 5666 – 5668
3. Fragment Based Drug Discovery 上村みどり、ファルマシア (日本薬学会誌) (2012) 48(7) 653-657

主要装置

1. 汎用計算機システム



2. SPring-8 生体超分子構造解析 ビームライン



3. 超高輝度 X 線回折装置および フリーマウンティングシステム



4. 高分解能溶液 NMR 装置 (400、500、 600、800、950 MHz) および 高分解能 固体 NMR 装置 (500、600、700 MHz)



5. 395GHz-600MHz DNP-固体 NMR 装置 DNP-NMR



6. 蛋白質相互作用解析装置

7. 透過型電子顕微鏡

8. 環境制御型 TEM 試料急速凍結 装置

9. ウルトラマイクロームシステム および 高圧凍結装置



10. 分析用超遠心機



11. ナノ LC/エレクトロスプレー



12. マトリクス支援レーザー脱離イオン化 -飛行時間型タンデム質量分析計



13. microLC システム/ MALDI プレー トスポットター



14. プロテイン・シーケンサー



15. 蛍光・RI 画像解析システム



16. DNA チップ解析装置



17. タイムラプス蛍光ビデオ録画 装置



18. セルソーター



19. 示差熱走査型熱量計および 等温滴定型熱量計

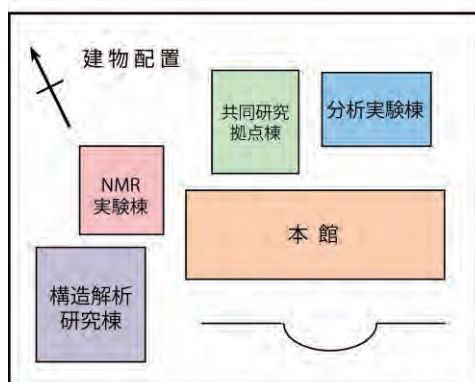
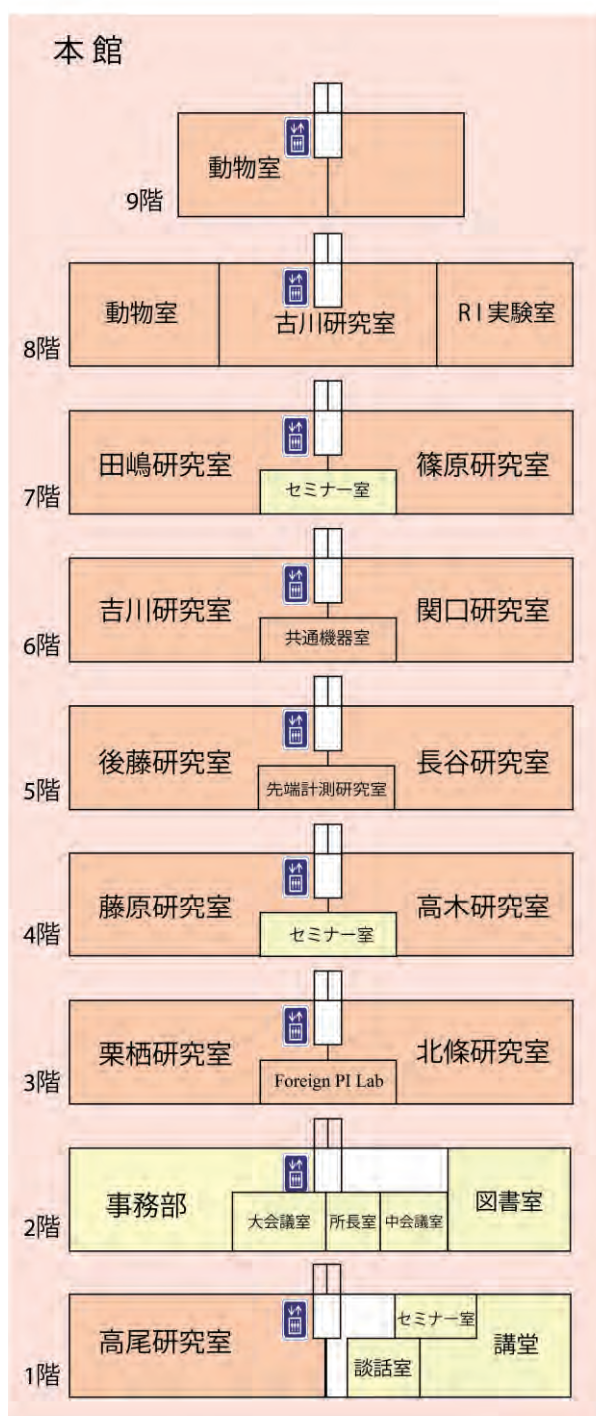
20. 円偏光二色性分光計

21. フーリエ変換赤外分光装置

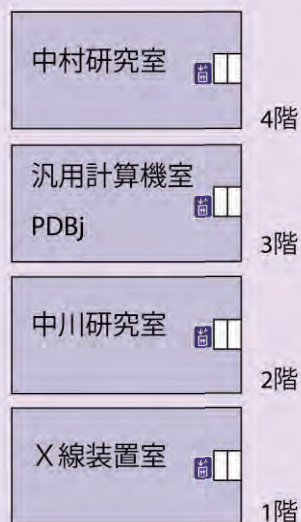
22. GPGPU(28 台)搭載の PC クラス ター・システム

23. 無染色細胞・組織イメージング 装置 (クライオ電子顕微鏡)

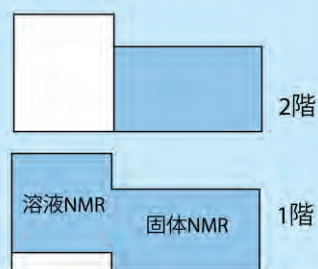
建物配置図



構造解析研究棟 蛋白質解析先端研究センター



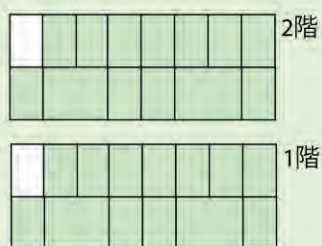
分析実験棟



NMR実験棟

先端計測研究室

共同研究拠点棟



オープンラボ

特任教授研究室

月原研究グループ

先端計測研究室

加納研究室, 三間研究室

体内環境統合蛋白質研究グループは
本館1階に位置します。

案内図



ー最寄り駅から蛋白質研究所へのアクセス

- 阪急千里線「北千里」から：徒歩 15 分又はタクシーで 5 分
- 地下鉄御堂筋線「千里中央駅」から：タクシーで 10 分、又は阪急バス「小野原東行」で阪大口下車徒歩 5 分、「阪大本部前行」阪大本部前下車徒歩 15 分、阪急バス「阪大医学部病院行」阪大歯学部病院前下車 15 分
- JR 東海道線「茨木駅」から：タクシーで 15 分、又は近鉄バス「阪大本部前」で阪大本部前下車、徒歩 15 分
- 大阪モノレール「阪大病院前」から：徒歩 20 分

大阪大学蛋白質研究所・広報室
〒565-0871 吹田市山田丘3番2号
TEL: 06-6879-8594 (庶務係)
FAX: 06-6879-8590
<http://www.protein.osaka-u.ac.jp>

蛋白質研究所要覧編集委員会
委員長・教授 古川貴久