





所長あいさつ 理念と展望 沿革	1 2 3
機構 歴代所長・名誉教授 運営協議会委員	4
教職員 構成員 / 決算 / 教育・研究活動 構成員数	6 9
決算 定期刊行物 教育活動 研究活動	17
共同初先で、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	17
蛋白質化学研究部門	02
王体及心統御研究室 細胞外マトリックス研究室 エピジェネティクス研究室 蛋白質有機化学研究室	23 24 25 26
蛋白質構造生物学研究部門	
蛋白質構造形成研究室 機能構造計測学研究室 蛋白質結晶学研究室 膜蛋白質化学研究室	27 28 29 30
蛋白質高次機能学研究部門	
ゲノムー染色体機能研究室 神経発生制御研究室 分子発生学研究室 細胞核ネットワーク研究室 体内環境統合蛋白質研究グループ	31 32 33 34 35
蛋白質国際統合研究部門	
国内客員研究室 特任教授研究室	37 38
附属蛋白質解析先端研究センター	39
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	40 41 42 43 44 47 49
主要装置	50
建物配直図 案内図	51 52

P

## 所長あいさつ





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57年を経た今、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、常時発信しております。

### 理念と展望

蛋白質の存在様式は多様であり、それが関わる生命現象も多岐にわたっています。蛋白質の研究は、その多様 性を反映して、基礎から応用まで多方面にわたって行われる必要があります。そのため、蛋白質についての研究 を効率的に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と施設を備えた、全国の研究者の討論と交流の場が必要とされ ます。このような要請に応えて、蛋白質研究所が 1958 年に全国共同利用研究所として創設されました。その後 の蛋白質研究は著しく発展し、構造解析手法や化学合成法の飛躍的な進歩によって蛋白質やその複合体の機能・ 構造に基づく高次生命機能の解明が進みつつありますが、創立以来の蛋白質研究所の理念はほぼ変わることなく、 次の2点にまとめることができます。

1) 化学、物理、生物、医学の多様な研究者の密接な協力により、蛋白質の構造と機能の基礎的研究を行い、それらに立脚してさまざまな高次生命機能を分子及び原子レベルで明らかにすること。

2)共同利用・共同研究拠点として、国内外の研究者に研究と交流の場を提供して共同研究を進め、蛋白質構造 データバンク(PDB)等のデータベースの開発・運営を行って、研究者コミュニティーおよび社会に対して広く 蛋白質科学の振興をはかること。

このような理念に基づき、2010 年度からの第2期中期計画においては全構成員が協動する「蛋白質素子から 生命システムへ」と称するプロジェクト研究を実施して成果を挙げてきました。また、本研究所は、2010 年に 共同利用・共同研究拠点として文部科学省から認定され、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、研究者ネットワークづくりを進めてまいりました。今日では、蛋白質立体構造データバンク(wwPDB) の世界4拠点の一つとして世界に貢献するとともに、アジア・オセアニアをはじめとし欧米を含む様々な海外の 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が強められております。 今後はさらにその成果を発展させ、現在の生命科学の潮流であるハイブリッド・アプローチにより細胞内装置の 構造・機能を多面的手法を統合して解析する「構造生命科学」の重点化を図ろうと考えております。

また、附属蛋白質解析先端研究センターは、 時代の要請に合わせて10年程度の期限により戦 略的・機動的に運営できる組織とし、今後は、 革新的な蛋白質研究の手法や装置を開発して、 独創性の高い研究をさらに推進する国際拠点を 確立したいと考えております。一方、国内外か ら優れた多様な研究者が集結する研究環境を整 備するとともに、2015年4月に「教育・人材育 成の理念」を掲げ、大学の枠を越えて国内外の 若手研究者の教育・人材育成を積極的に推進し ております。さらに、基礎研究から生まれるイ ノベーションの創出と企業との共同研究を進め て、研究成果の社会への情報発信機能を拡充す るなど、社会との連携も強化する所存です。



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盛んに行われており ました。戦後、蛋白質の研究は世界的に急速な進展を見せ始めました。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、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 まりました。当時の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ました。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、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いたしました。

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、当時の赤堀四郎教授が初代所長に任命されました。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 16 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おります。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文部科学省から改めて認定され、わが国の蛋白質研究の中核として研究者 コミュニティーに貢献するための一層の努力を続けております。2012 年度には、蛋白質解析先端研究センター が発足し、革新的な蛋白質研究の手法や装置を開発して、独創性の高い研究をさらに推進しております。

### 年 譜

- 1956 理学部に「たんぱく質研究施設」設置
- 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
- 1959 酵素反応学研究部門、蛋白質物理構造研究 部門の増設
- 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
- 1961 旧中之島キャンパスに本館(4,130 m)竣工
- 1962 ペプチドセンター設置
- 1964 蛋白質物性研究部門の増設
- 1965 鳥井記念館内に分室(569 m<sup>2</sup>)を設置
- 1967 血液蛋白質研究部門の増設
- 1971 現在の吹田キャンパスに本館(7,873 m) 及び機械棟(644 m)竣工
- 1972 現在の吹田キャンパスに移転
- 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

- 1979 結晶解析研究センター棟 (1,505 m) 及び超伝 導
  - 核磁気共鳴装置棟(267 m゚)竣工
- 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]
- 1998 生体分子解析研究センター設置(時限 10 年)
- 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]
- 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
- 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
- 2006 疾患プロテオミクス (Shimadzu) 寄附研究部門 設置
- 2008 共同研究拠点棟(1,149 m))竣工
- 2009 本館耐震改修工事実施
- 2010 蛋白質研究共同利用・共同研究拠点に認定
- 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)

沿革



機構

歴化	歴代所長											
<b>4</b> π	112	土根	m 占7	1050 左	4 5	_	1	_		1061 左	11 🗖 20	_
19]	17	亦拙	드리	1958 年	4 )	-			~	1901 年	11月30	
2	代	伊勢村	寿三	1961年	12 🗲	3	1	H	~	1965 年	11月30	Н
3	代	鈴木	友二	1965 年	12 F	3	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 F	∃	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 F	∃	1	日	~	1989 年	3月31	日
9	代	勝部	幸輝	1989 年	4 F	∃	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	﨑山	文夫	1995 年	4 F	∃	1	日	~	1997 年	3月31	日
12	代	京極	好正	1997 年	4 F	∃	1	日	~	1999 年	3月31	日
13	代	下西	康嗣	1999 年	4 F	∃	1	日	~	2000 年	3月31	日
14	代	永井	克也	2000 年	4 F	∃	1	日	~	2004 年	3月31	日
15	代	阿久津	秀雄	2004 年	4 F	∃	1	日	~	2006 年	3月31	日
16	代	月原	冨武	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 F	∃	1	日	~	2014 年	3月31	日
19	代	中村	春木	2014 年	4 F	∃	1	日	~		Prese	ent

# 名誉教授\_\_\_\_\_

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

## 運営協議会委員 \_\_\_\_\_\_

### 2015 年 4 月 1 日現在

D

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・細胞生理学研究センター
教	授	北 渤	л е	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部
ᄴᅭᆍ				
学内安	貝			
教	授	深瀬	浩一	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	E.	教	授	理学博士	中村	春木
	副 所	長	教 教	授 授	理学博士 理学博士	中川 篠原	敦史 彰
	センタ	一長	教	授	理学博士	高木	淳一
	蛋白質	化学研究部門					
	生体反) 教 准 助	芯統御研究室 授 教授 教		理学博= 理学博= Ph.D.	E E	長谷( 中井 〕 有賀(オ	浚治 正人 ≤股)洋子
	細胞外 教 助 技	マトリックス研究 授 教 術専門職員	空	理学博: 博士(玛 博士(玛	士 [学) [学)	関口 山田 乗岡	清俊 雅司 尚子
	エピジ: 教 准 招 助 技	Eネティクス研究 授 教授 へい准教授 教 術職員	室	理学博: 博士(理 博士(悪 博士(悪 理学修:	士 望学) 望学) 理学) 士	田末 牧木阿 木 村 部	正二 勲 安 信 行
	蛋白質 教 准 講 助	有機化学研究᠍ 授 教授 師(兼) 教	141	理学博: 博士(エ 博士(理 博士(理	士 :学) <sup>[</sup> 学) <sup>[</sup> 学)	北條 川上 佐藤 朝比奈	裕信 徹 毅 ٤ 雄也
	蛋白質	構造生物学研究	究部門	1			
	蛋白質 教 講 助	構造形成研究雪 授 ■ 師 教	室	理学博; 博士(珥 博士(珥	士 5学) 5学)	後藤 李 映 宗 正	祐児 昊 智
	機能構教客准助助	造計測学研究 授 員教授 教授 教 教(兼)		理学博: 博士(理 博士(理 博士(理 博士(理	士 5学) 5学) 5学) 5学)	藤内 児 松 杉	敏道 晶 長次郎 陽 俊彦
	蛋白質 教 准 助	結晶学研究室 授 教授 教(兼)		博士(エ 博士(玛 博士(玛	:学) 望学) 望学)	栗栖 田中 武藤	源嗣 秀明 梨沙
	膜蛋白 独	質化学研究室 立准教授		博士(農	<b>}</b> 学)	三間	穣治

教職員

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	<b>亜</b> 堂 博 十	篠百 彰
我 15 准	生ナはエ 捕十(医学)	後回 茶日 茶日
生 (1) 生 (1)	(四子) (田子)	はない 大心 キャング ちょうしん ちょうしん ちょうしん ちょうしん ちょうしん ちょうしん ちょうしん しんしょう しんしょ しんしょ
付任则权	侍工(理子)	寸/半 匚 ।守
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
分子發生堂研究室		
为 招	医学博士	古川 告々
我 <u>这</u> 准 数 运	运于侍王 捕十(医学)	
准·狄]又 助	侍王(区于) 博士(医学)	八林 我怕 かま 田住之
り、我は我時号	時工(区子)	任良 · 任任丁 计 + 主 曲
<b>汉</b> []]		ユガ
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		
次百八百 <u>兵</u> 1977年 家昌教授	Ph D	RÖGNER Matthias
安昌教授	Ph D	HAPPE Thomas
4 <b>4</b> 4 5 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10	Ph D	Hall Damien R
何止准教授		Tiali, Daimeri N.
国内各員切九主 招へい教授	理学博士	山崎 俊夫
特任教授研究室		
月原研究グループ		
客員教授	博士(理学)	月原 冨武
附属蛋白質解析先端研究	センター	
機能・発現ブロテオミクス研	州究室	
教授	埋字博士	局尾 敏文
特任助教	博士(理学)	DONZELI PEREIRA, Carolin
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	□□(不)/	海津 正腎
技術専門職員		川上 恵子
ᅒᄭᄀᄲᄽᄻᄱᄯᆇᅲᅭ		
超分于構造解析学研究室 物 <sup>短</sup>	田永寺上	山川 訪中
彩 [2]	理子 傳工	中川 教史 会士 空
准教授	<b>博工(</b> 理学)	玩不 寸 二四 十小二
切 教	博士(楽字)	大野まゆみ
助 教(兼)	博士(埋字)	
特任助教	博士(薬学)	竹下 浩平

教職員

D

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)	土屋 裕子
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		
数 授( <b>兼</b> )	<b>博十</b> (理学)	中川 敦史
数 授(兼)	博士(理学)	高木 淳一
数 授(兼)	博士(理学)	高尾 敏文
准教授(兼)	博士(理学)	岩崎 憲治
諸師	時工(理学) 博士(理学)	石 <sup>両</sup> 惑力 佐藤 毅
助教	博士(理学)	山下 栄樹
助教	语 <u>史</u> (史)/ 理学博十	三村 百玲
助教	理于時上 博十(理堂)	上门 直视 杉木 俊彦
助教	は十(理学)	行来 赵沙 武藤 赵沙
均级	は十(理学)	武廠 未少 古诺 部中
17日切扱 は街車明融昌(兼)	侍工(壮丁)	
技術等门職員(本)	埔十(理学)	川工 忘丁 垂岡 尚子
はおきょう (本)	(中土(4) 田学修士	来问 问 ] 阿邨 古行
1211110日(木)	生于修工	[[표] 에미에
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)	修士(理学)	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	博士(理学)	上村 みどり
事		
事務長		安口 一郎
庶務係	係長	松永 伸一
	主任	田中 陽子
	事務職員	吉村 則子
全計函	係長	白井 隆志
云山床	示氏	
	<u> エ</u> ユ 主 任	
	L- 事 発 職 員	逗っ ム明 北田 ゆつき
	事務職員	11日 マンク
	ナ1/1/1% <b>尺</b>	гн дј
共同利用係	係長	松下 寿澄
	主任	栗林 貞弘
	主任	荒木 奈緒子
	事務職員	永見 一彰

D

教職員

# 構成員/決算/教育・研究活動

### 構成員数

				2015 3	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	3	
	講師	2		助教	16	
	特任助教	5		事務系職員	14	
	技術系職員	6		事務補佐員	16	
	技術補佐員	25		- WINNER	10	
	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	20			110	
					119	
研究員	外国人招へい研究員	0		博士(特任)研究員	66	
	外国人博士研究員	2		特別研究員	10	
	国際共同研究員	12		共同研究員	136	
				(Beamline)	59	
				(Regular)	69	
				(NMR)	8	
				計	226	
学生	学部生	10				
Student	大学院学生(博士課程)	37				
	大学院学生(修士課程)	56				
	研究生	4				
	=	107				
	āl	107				

# 決算 (2014 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11 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			
教長関田後藤栗古篠吉高高中中北谷口嶋藤原栖川原川尾木川村條授俊清正祐敏源貴 和敏淳敦春裕治俊二児道嗣久彰明文一史木信	准川中末児篠大奥岩鈴金加三田教上井武嶋原森村崎木城納間中正 長美義宣憲 純穣秀人勲郎紀裕明治守玲子治明	講 師 李 映吴 佐藤 毅	助 教 有山木松 (木雅 博 一 大 世 子 一 藤 北山 下 栄 樹	特任助教 東浦 彰史
理学研究科化学専	攻			
教 授 藤原 敏道 高尾 敏文 中村 春木 北條 裕信	准 教 授 川上 徹 児嶋長次郎 金城 玲	講 師 佐藤 毅	助 教 松木 陽 朝比奈 雄也	
理学研究科高分子	科学専攻			
教 授 後藤 祐児 栗栖 源嗣 中川 敦史	准 教 授 鈴木 守 田中 秀明	講 師 李 映昊	助 教 山下 栄樹	特任助教 東浦 彰史
医学系研究科				
教 授 吉川 和明 古川 貴久			助 教 長谷川孝一 藤原一志郎	
生命機能研究科				
<ul> <li>教 授</li> <li>中村春木</li> <li>高木淳一</li> <li>中川敦史</li> <li>高川 貴久</li> </ul>	准 教 授 鈴木 守 岩崎 憲治 金城 玲			

### 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	46	31
医学系研究科	3	1	1
生命機能研究科	0	5	3

# 研究活動

発表業績数

<b>業績数</b> 2010 -							
	2010 年	2011 年	2012 年	2013 年	2014 年		
原著論文	132	127	128	128	108		
総説	23	22	27	31	20		
学会発表	327	278	279	277	306		

### 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	研究期間 (年度)				
代表						
1	(独)科学技術振興機構、CREST	2014 2010				
	新規細胞膜電位シグナルの構造基盤の解明	2014-2019				
2	(独)科学技術振興機構、統合化推進プログラム	2014 2016				
	蛋白質構造データバンクの高度化と統合的運用	2014-2016				
3	(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	2012 2017				
	幹細胞培養用基材の開発	2013-2017				
4	(独)科学技術振興機構、CREST	2012 2010				
	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	2013-2018				
5	(独) 日本学術振興会、科学研究費補助金基盤研究 (A)	2012 2015				
	レオウイルスの感染・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	2013-2015				
6	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	2012 2014				
	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	2012-2014				
7	(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	2012 2012				
	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	2012-2013				

8	文部科学省、科学研究費補助金新学術領域研究	2012 2016	
	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	2012-2016	
9	文部科学省、創薬等支援技術基盤プラットフォーム事業	2012 2017	
	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	2012-2016	
10	文部科学省、X 線自由電子レーザー重点戦略研究課題	2012 2016	
	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	2012-2016	
11	文部科学省、科学研究費補助金新学術領域研究	2012 2017	
	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	2012-2016	

12	日本学術振興会、科学研究費補助金若手研究(A)	2012-2014	
10	謎の巨入杣ナホルトの主立体構造決定から機能解明への迫を切り開く		
13	又部科字省、科字研究資補助金新字術領域研究 ゲノムを支えるまっード DNA 領域の機能	2011-2015	
14			
14	(低)科子技術派與破補、航台化推進ノログラム 蛋白質構造データバンクの国際的な構築と統合化	2011-2013	
15			
10		2010-2014	
16	文部科学省 科学研究費補助金新学術領域研究		
10	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	2010-2014	
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		
	細胞内 Mg <sup>2+</sup> 制御の分子実体解明とがん悪性化シグナル	2010-2013	
18			
	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	2010-2013	
19			
	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	2010-2013	
20	(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	2010-2012	
21	文部科学省、ターゲットタンパク研究プログラム		
	ATP 生産関連膜蛋白質系の構造と機能解析	2010-2011	
22	文部科学省、橋渡し研究支援推進プログラム	2000 2012	
	多能性幹細胞フィーダーフリー培養基材の開発	2009-2013	
23	(独)日本学術振興会、科学研究費補助金若手研究(S)	2008 2012	
	細胞極性制御におけるリン脂質 PIP3 輸送の役割	2008-2012	
24	文部科学省、ターゲットタンパク研究プログラム		
	H <sup>+</sup> -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	2007-2011	
25	文部科学省、ターゲットタンパク研究プログラム	2007 2000	
	固体 NMR 膜蛋白質複合体構造解析技術	2007-2009	
26	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	2007-2009	
27	(独)日本学術振興会、科学研究費学術創成研究	2006 2010	
	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	2006-2010	
28	(独) 日本学術振興会、科学研究費補助金基盤研究(A)	2007 2000	
	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	2006-2008	
29	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	2005-2010	
30	切5日 (ロンティア) (油) 利学技術振興機構 戦略的国際利学技術協力堆准事業		
30	17-21/17コンガザ1及1件、我回当日本17大丁12月)加力推進事素	2005-2008	

分担

31	日本医療研究開発機構 (AMED) 、 CREST	2014 2010	
	内細菌叢による代謝・免疫・脳異常惹起メカニズムの解明と治療応用	2014-2019	
32	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	2012 2017	
	革新的 in silico シュミレーション/スクリーニングソフトウェアの開発	2013-2017	
33	(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)	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		
34	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)創薬等支援技術基盤プラットフォーム	2012-2016	
	構造生命科学データクラウドの構築運用と高度化		

35	(独) 科学技術振興機構、CREST	
	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	2011-2016
36		
	高難度タンパク質をターゲットとした放射光×線結晶構造解析技術の開発」	2011
37	(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	
	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	2010-2013
38	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	
	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	2010-2011
39	(独) 日本学術振興会、科学研究費補助金基盤研究 (S)	2000 2012
	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	2009-2013
40	文部科学省、ターゲットタンパク研究プログラム	2007 2011
	H <sup>+</sup> -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	2007-2011
41	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	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	2007-2012
42	文部科学省、ターゲットタンパク研究プログラム	2007 2011
	アルツハイマー病治療薬創出に向けた $\gamma$ セクレターゼの構造解析と機能制御	2007-2011
43	文部科学省、ターゲットタンパク研究プログラム	2007 2011
	細胞接着装置構成タンパク質の構造生物学的研究	2007-2011
44	文部科学省、ターゲットタンパク研究プログラム	2007 2011
	新規膜電位センサー蛋白群の構造と機能の解明	2007-2011
45	文部科学省、ターゲットタンパク研究プログラム	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	2007-2011
46	文部科学省、ターゲットタンパク研究プログラム	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	2007-2011
47	文部科学省、ターゲットタンパク研究プログラム	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	2007-2011
48	文部科学省、ターゲットタンパク研究プログラム	2007-2011
	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	2007 2011
49	文部科学省、ターゲットタンパク研究プログラム	2007-2009
	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	2007 2009
50	(独)科学技術振興機構、戦略的創造研究推進事業	2006-2011
	細胞内標識による生物分子トモグラフィー	
51	(独)新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO技術開発機構)	2006 2000
	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 は佐の問発	2006-2009
52	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	2005-2009
53	(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	2005-2009
54	(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	<u> </u>
	実践による超分子複合体モデリングシステムの開発	2005-2008
55	(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	2005-2008
55	(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	2005-2008



### 代表的な受託研究

	出資機関/プログラム名/テーマ		
1	(独)新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO 技術開発機構)		
	再生医療の産業化に向けた評価基盤技術開発事業/再生医療の産業化に向けた細胞製造・加エシステ ムの開発	2014-2018	
2	(独)新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO 技術開発機構)		
	立体造形による機能的な生体組織製造技術の開発/革新的な三次元精密細胞配置法による立体造形 と小口径血管を有するバイオハートの研究開発	2014-2018	
3	(独)科学技術振興機構、統合化推進プログラム	2014 2016	
	蛋白質構造データバンクの高度化と統合的運用	2014-2016	
4	厚生労働科学研究委託事業	2014-2016	
_	革新的がん医療実用化研究事業		
5	浜理薬品工業	2014-2014	
	マイクロウェーブを用いた Peptide Chemistry 及び装置技術の習得		
6	又部科学省、先端研究基盤共用・ノフットノオーム形成事業 た当体地を共鳴社業群の充業利用主張プログラノ	2013-2015	
-	尤师核燃丸共鳴装直研の性未利用又抜フログフム 		
/	ス 部 科 子 有 、 剧 条 寺 又 抜 技 州 奉 盛 ノ フ ツ ト ノ オ 一 ム 所 析 拠 県 相 関 柄 垣 所 析 未 務	2012-2014	
0	电頻1 メーンノクを土軸とした相関時位 技術の開発と応用 (株) ロナ価雄		
ŏ	(休)口や照烁 エ坦ペプチビ会式はの問題	2013	
0	利成へファト言成法の開発 立如利労火 創英生ま揺せた其般プニットフェーノ		
9	ス部科子省、創業寺文抜技術基盤ノフットフォーム 鼻告端NMD 携進敏振に向けた蛋白質計測評価調制シュニノの支産ルトは如本博	2012-2016	
10	版元端NMN 構造所们に回りたまロ員訊料計画詞袋シスチムの同度化と外部文版 (油) 利学技術振興機構, さきがけ		
10	(法) 科子技術派兵候構 ここの) 横浩から迫る細胞内輸送マシナリー	2012-2014	
11			
''	(別) 口本丁田ン 7 9日 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	2012-2013	
12	(独)科学技術振興機構, 戦略的創造研究推進事業 AICA(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	2011-2016	
13	(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」	2011-2015	
14	(独)科学技術振興機構、統合化推進プログラム	2011 2012	
	蛋白質構造データバンクの国際的な構築と統合化	2011-2013	
15	(財)日本宇宙フォーラム	2011 2012	
	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	2011-2012	
16	(独)新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO)	2010 2015	
	ヒト幹細胞実用化に向けた評価基盤技術の開発	2010-2013	
17	<ul> <li>(独)科学技術振興機構・さきがけ</li> </ul>	2010-2014	
	複合体解析による光合成エネルギー変換の完全理解	2010-2017	
18	(独)新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO)	2010-2015	
10	次世代機能代替技術の研究開発		
19		2010-2013	
00	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スム		
20	近蔵栓済産業局、半成 22-24 年度地域イノヘーンヨン創出研究開発事業 佐里に明ねる 英方新聞のなまたまで満分山共常の研究明察	2010-2012	
01	大志に因れる東口貝共市成未体の同述協等快口表直の研究所充 立邦利学生 生神理空体設せ田伊准事業		
	スロロヤtチョ、元姉町九旭政共用ル理事素 先端核磁気共鳴装置群の産業利用支援プログラム	2010-2011	
22	(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	2009-2014	
23	(独) 科学技術振興機構・さきがけ		
		2009-2012	
1	エアキリ、vault V上学语起目来で全角にして利応 DDS V我回時世代		

24	(独)宇宙航空研究開発機構	2000
	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	2009

P

### 企業等との代表的な共同研究

	相手方機関/テーマ	研究期間 (年度)
1	(独立行政法人)宇宙航空研究開発機構	2014 2017
	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	2014-2017
2	中外製薬株式会社 プレキシン抗体のエピトープ解析	2014-2015
3	株式会社 KRI	2014-2015
1	クリイオ电丁頭似頭によるフラトマナリアルのイメージング	2014 2015
4	クライオ電子顕微鏡によるバイオ材料のイメージング	2014-2013
5	株式会社カネカ 電子顕微鏡イメージングによるバイオ材料の構造解析	2014-2015
6	味の素株式会社	
	改変ラミニン及びそれに適合する幹細胞用培地の開発	2013-2014
7	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	2012 2017
	革新的 in silico シュミレーション/スクリーニングソフトウェアの開発	2013-2017
8	(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	2013-2015
	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	
9	(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	2013-2014
10	(独)宇宙航空研究開発機構	2013
	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	2013
11	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	2012-2014
12	インタープロテイン株式会社	2012 2012
	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	2012-2013
13	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	2012-2013
14	(株)パナソニック	2012
	蛋白質間相互作用構造予測技術に関する研究	2012
15	(株)エーザイ	2011-2014
	薬物代謝酵素チトクローム P450 脂質膜中構造	2011-2014
16	(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	2011-2014
17	(株)島津製作所 等白質の分子解析技術の関発	2011-2012
18		
	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	2011-2012
19	(株)小野薬品工業 FATT タグを用いた土児苗による組み始え蛋白質の生産	2011-2012
20	MII ランで用いた八物困による祖の侠ん虫ロ貝の生生 (株) ニッピバイオマトリクス研究所	
20	「マシン・コラーゲン等細胞接着分子の研究	2011-2012
21	(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	2011-2012
22	<ul><li>(株)バナソニック</li><li>蛋白質間相互作用構造予測技術に関する研究</li></ul>	2011
23	(社)バイオ産業情報化コンソーシアム	2011
	高精度 in silico スクリーニング等シミューレーション技術の開発	2011
24	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	2011
25	プロテインウエーブ株式会社	2011
	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	2011

26	(性)コンダル	
20	、177/ スンクム 表皮幹細胞の同定方法の確立	2010-2014
27	<u> (株) 第一三世 RD アソシェ </u>	
21	FATTタグを用いた大腸菌による組み換え蛋白質の生産	2010-2011
28		
	G 蛋白質共役型受容体 (GPCR) モデルによるバーチャルスクリーニングと構造最適化のための方法論	2010-2011
	の開発	
29	(独)科学技術振興機構、(独)理化学研究所	2010
	NMR データベースに関する共同研究	2010
30	(独)宇宙航空研究開発機構	2010
	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	2010
31	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	2010
32		2010
22	-  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -  -	
33	(株) アイアフス	2009-2011
24	抗体創業基盤技術としての合理的抗体設計手法の開発	
34	(休)ハノノーツン 座白皙明坦互佐田堪法圣測は後に明える孤空	2009-2010
35	虫口貝间怕丘作用悟迫 ア 例 仅 削 に 関 9 る 听 九 (姓) イ い 々 一 プロテイ い	
00	(林) インテーシロナイン 機能解析 構造解析に其づく低分子性制御医薬の創制	2009
36	(	
00	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	2009
37	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	2008-2011
38	(株)日本医学臨床検査研究所	2000 2010
	LRP6 モノクローナル抗体の開発	2008-2010
39	(独)科学技術振興機構、(独)理化学研究所	2008 2000
	NMR データベースに関する共同研究	2008-2009
40	(株)セラバリューズ	2008-2009
	プロテオミクスによるバイオマーカー探索	2008-2007
41	(財)日本皮革研究所	2007-2009
	分子構成を最適化した人工基底膜の再構築技術の開発	2007 2009
42	アステラス製薬(株)	2006-2008
10	Antibody Informatics による抗体医楽品創製手法の開発	
43	シスメックス(株)	2005 2000
	央国 Maiverni 社殿 「セーダ サイ サーナノ」を用いたダンハク賞 結晶化 モニダリンク 計測技術の開発	2005-2009
11	に	
44	、1か/ ロンハイ ノフノ ロンーへ 新相士C/MSn システムに とスプロテナミクス	2005-2009
45	利//バヒ レン/ mo ノイノムによるノロノルミンス (株) 自注制作所	
40	NTA/四件衣IF7/I NRS法による蛋白質プロファイリング解析	2005-2008
46	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	2005-2008
L		

### 特筆すべき研究活動

	プログラム名/テーマ	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	2001~2014

### 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、2014年度までに総計2,212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。2014 年度には、12 ヶ国(ドイツ、韓国、タイ、アメリカ、インド、マレーシア、台 湾、オーストラリア、ハンガリー、インドネシア、イギリス、スウェーデン)から 17 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。

	-	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
平成 26 (2014)	79	30	65	65	12	12

### 共同研究員数

共同利用・共同研究拠点 / 国際交流

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			
平成 26 (2014)	18	382			

# 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、2014 年度 には次の 16 のセミナーが開かれた。

D

### 2014年度に実施した蛋白質研究所セミナー

	テーマ/世話人	開催日
1	2014 年ビームラインワークショップ	2014年5月12-14
	中川 敦史(大阪大学・蛋白研)、山下 栄樹(大阪大学・蛋白研)、東浦 彰史(大阪大学・蛋白研)	日
2	非均一サンプリング NMR 測定の実際と生体高分子への応用 〜自在な実験デザインと研究展開〜	2014年6月18-19
	池上 貴久 (横浜市立大学)、竹内 恒 (産業技術総合研究所)	日
3	染色体伝承の分子背景:複製から染色体分離まで	2014年9月25-26
	釣本 敏樹(九州大学)、升方 久夫(大阪大学・理学研究科)、舛本 寛(かずさDNA 研究所)	日
4	Regulation and Environmental Adaptation of Photosynthesis: An Attractive Theme for Structural	2014年10月24日
	Life Science	
	長谷 俊治 (大阪大学・蛋白研)、栗栖 源嗣 (大阪大学・蛋白研)	
	Akira SUZUKI (Institut Jean-Pierre Bourgin, INRA Centre de Versailles)	
5	Genome stability and exchange of DNAs	2014年11月14日
	Susan GASSER (FMI)、篠原 彰(大阪大学・蛋白研)	
6	Mechanism and regulation of aberrant protein aggregation	2014 年 11 月 17-
	後藤 祐児(大阪大学·蛋白研)、Jozef KARDOS(Eotvos Larand Univ.)	21 日
	茶谷 絵理(神戸大学)、八木 寿梓(鳥取大学)	
7	第7回 Retina Research Meeting	2014年11月22日
	村上 晶 (順天堂大学)、岩田 岳 (東京医療センター)	
	溝田 淳(帝京大学)、渡辺 すみ子(東京大学)	
8	情報統合による意思決定の神経基盤-神経回路機構とその形成発達-	2014年11月27-28
	佐藤 真(大阪大学・医学系研究科)、吉川 和明(大阪大学・蛋白研)	日
9	第5回神経科学と構造生物学の融合研究会	2014 年 12 月 4-5
	五十嵐 道弘 (新潟大学)、椎名 伸之 (基礎生物学研究所)、西岡 朋生 (名古屋大学)	日
	貝淵 弘三 (名古屋大学)、高木 淳一 (大阪大学・蛋白研)、中川 敦史 (大阪大学・蛋白研)	

共同利用・共同研究拠点 / 国際交流

10	Looking to the future of Notch signaling	
	。	2014年12月18日
	相賀 裕美子 (国立遺伝学研究所)	
11	-The 11th Japan-Korea Bilateral Symposium on Biological NMR-	0044 5 40 8
	-International NMR Symposium on Pharmaceutical NMR-	2014 年 12 月
	藤原 敏道 (大阪大学・蛋白研)、児嶋 長次郎 (大阪大学・蛋白研)	19-20日
	Bong-Jin Lee(ソウル大学)	
12	Molecular Crowding and Macromalecular Association	2015年2月5日
	後藤 祐児(大阪大学・蛋白研)、Damien HALL(オーストラリア国立大学)	
13	PDBj&創薬等情報拠点講習会『見てわかるタンパク質-生命科学のための立体構造データの利用	
	法』	2015年2月20日
	中村 春木(大阪大学·蛋白研)	
14	嫌気蛋白質を対象とした構造・機能相関の現状	2015年3月5日
	栗栖 源嗣 (大阪大学・蛋白研)、藤田 祐一 (名古屋大学)	
15	Analysis and prediction of protein assembly structures by bioinformatics	2015年3月6日
	中村 春木(大阪大学・蛋白研)、由良 敬(お茶の水女子大学)	
	光運動反応・光センサー蛋白質・光遺伝学	2015 年 2 日 10 11
16	~渡辺正勝先生追悼記念~	2015年3月10-11
	岩崎 憲治(大阪大学·蛋白研)、伊関 峰生(東邦大学)	Ч

### 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研究者が来日し、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 1987年)、国立遺伝子・生物工学センター(キューバ 2003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)、アイルランガ大学熱帯病研究所(インドネシア 2014年) 国立蛋白質科学センター・上海(中国 2014年)、北京大学蛋白質科学センター(中国 2014年) オーストラリア国立大学自然科学部(豪州 2014年)

Г

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
1	中国・北京大学、蛋白質科学センター / 昌 増益 教授
	・蛋白質科学の振興
2	中国・国立蛋白質科学センター(上海)/ 雷 鳴 教授
	・構造生命科学の振興
3	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
4	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
5	ドイツ、ライプチヒ大学 / ピーターF.スタッドラー教授
	・DNA メチル化のバイオインフォーマティクス
6	ドイツ、マックスプランク免疫学およびエピジェネティクス研究所 / フライブルグ岩波礼将チームリーダー
	・ゼブラフィッシュにおける Dnmt1 変異の機能解析
7	キューバ国立遺伝子生物工学研究センター / ホルヘ・フェルナンデス - デ - コシオ
	・質量スペクトル解析用ソフトウエアの開発研究
8	イタリア、トリノ大学 / ルカ・タマニョーン教授
	・ヒトプレキシン D1 に対する機能修飾抗体の開発
9	米国コーネル大学 / グレゴリー・A・ペツコー教授
	・sorLA に対する低分子化合物の探索
10	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
11	台湾・国立成功大学 / チェン チュンジュン教授
	<ul> <li>・緑膿菌における2成分制御系に関与する蛋白質とその複合体の結晶構造解析</li> </ul>
12	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線イメージング法に関する研究
13	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
14	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 ComplexI の構造解析
15	ドイツ・ミュンスター大学 / マイケル・ヒップラー教授
	・緑藻がもつ EF ハンド型チオレドキシンの構造解析
16	タイ・スラナリー工科大学 / ジェイムス・ケアンズ教授
	・新規なβグリコシダーゼの構造解析
1/	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、
10	
18	イタリア・ウティネ大学 / ジェンナーロ・エスボジト教授、
10	
19	米国リシントン大学医学部 / アレックス・マース教授
20	・ 野母 SINARE/ Sect/Multicle (SM) ダノハク貝依仔性展融ロの分十機構
20	不国ダートマス入子医子部 / リイリアム・リイツクナー教授
21	- JIMANL は17 レリヤノ朕職日にのける IIUF3 ナリリング後日体の成形件研
	ハンカリー・エドハヘ ローランドハチ / ブンドマ・ハルシェル叙授 ・蛋白質ミスフォールディングと海集の初期段階
22	- 国ロ貝ミハフィールノインフロ旗末の10秒10円 半国・ニュージャージーを封歯利士学 / イノウェ フサコリ教授
22	ヘロ・ーユーンマーン一区特徴性八子 / 1 / リエ メリコリ教授 ・タンパク質の単一連直質生産細胞による同位体搏識
	ノノンノ丸2十 国口丸工匠室房での全国市である三百万字

共同利用・共同研究拠点 / 国際交流

23	米国・ウィスコンシン大学マジソン / ジョン・マークレー教授
	・生体系 NMR のデータバンク
24	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
25	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
26	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
27	米国・フリードリッヒ、ミーヒャー研究所 / スーザン・ガッサー教授
	・染色体ダイナミックスの分子メカニズム解析

D

# 蛋白質化学研究部門

生体反応統御	研究室	
教 授 准教授 助 教	長谷 俊治 中井 正人 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. Unconvering the Protein Translocon at the Chloroplast Inner Envelope Membrane. Kikuchi S, Nakai M, et al. (2013) *Science* **339**, 571-574.
- Concentration-dependent oligomerization of cross-linked complexes between ferredoxin and ferredoxin-NADP<sup>+</sup> reductase. Kimata-Ariga Y, Kubota-Kawai H, Lee Y-H, Muraki N, Ikegami T, Kurisu G, Hase T. (2013) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 434, 867-872.
- N-terminal structure of maize ferredoxin:NADP<sup>+</sup> 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
- Electron Transfer of Site-specifically Cross-linked Complexes between Ferredoxin and Ferredoxin-NADP+ Reductase. Kimata-Ariga 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.
- Molecular interaction of Ferredoxin and Ferredoxin-NADP<sup>+</sup> reductase from human malaria parasite. Kimata-Ariga Y, Hase T, *et al.* (2007) *J. Biochem.* 142, 715-720.

生体反応統御研究室

## 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	<b>ド専門職員</b>	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 一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 解明することを目標としている。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。

細胞外マトリックス研究室



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0ct3/4(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。0ct3/4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】

- Transcriptome-based systematic identification of extracellular matrix proteins. Manabe, R. *et al.* (2008) *Proc. Natl. Acad. Sci.* USA 105, 12849-12854.
- Polydom/SVEP1 is a ligand for integrin α9β1. Sato-Nishiuchi, R. et al. (2012) *J. Biol. Chem.* 287, 25615-25630.
- Basement membrane assembly of the integrin α8β1 ligand nephronectin requires Fraser syndrome-associated proteins. Kiyozumi, D. et al. (2012) *J. Cell Biol.* 197, 677-689.
- 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:HP1 $\alpha$ のヌクレオソーム内のH3K9me3認識機構。HP1 $\alpha$ 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 スクレオソーム内のH3K9me3を認識するためにはHRのネットの正電荷[ $\Sigma$ (+)]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】

- 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.
- 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.
- 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.
- 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. Berkyurek AC, Suetake I, Arita K, Takeshita K, Nakagawa A, Shirakawa M, Tajima S (2014) J. Biol. Chem. 289, 379-386.

エピジェネティクス研究室



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:ヒトインターロイキン2の化学合成ルート. 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】

- Peptidyl N-alkylcysteine as a peptide thioester surrogate in the native chemical ligation. Asahina Y, Nabeshima K, Hojo H (2015) *Tetrahedron Lett.*, **56**, 1370-1373.
- 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.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.
- 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.Coupling of transmembrane helix orientation to membrane release of the juxtamembrane region in FGFR3. Tamagaki H, Furukawa Y, Yamaguchi R, Hojo H, Aimoto A, Smith SO, Sato T (2014) *Biochemistry*, **53**, 5000-5007.

蛋白質有機化学研究室

# 蛋白質構造生物学研究部門

## 蛋白質構造形成研究室

教	授	後藤 祐児
講	師	Lee Young-Ho
助	教	宗 正智

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 オ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が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: $\beta$ ラクトグロブリンのフォールディング反応.非天 然 $\alpha$ へリックスを含む中間体が蓄積した後、主に $\beta$ 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ー線維観察。



図3:超音波によって蛋白質のアミロイド線維や結晶形成 を促進する装置 HANABI (HANdai Amyloid Burst Inducer) の構成図。文献2をもとに作成。



図4:アミロイド線維の形成反応と、酢酸ナトリウムの結 晶化反応の類似性。共に溶質の過飽和溶液が解消されるこ とによって起きる発熱反応である。文献4をもとに作成。

### 【文献】

- 1. 過飽和生命科学の開拓 後藤祐児(2013) *領域融合レビ* <u>ユー 2</u>, e002.
- 2. High-throughput analysis of the ultrasonication-forced amyloid fibrillation reveals the mechanism underlying the large fluctuation in the lag time. Umemoto A, Yagi H, So M, Goto Y. (2014) *J. Biol. Chem.* **289**, 27290-27299.
- Supersaturation-limited amyloid fibrillation of insulin revealed by ultrasonication. Muta H, Lee YH, Kardos J, Lin Y, Yagi H, Goto Y. (2014) *J. Biol. Chem.* 289,18228-18238.
- Heat of supersaturation-limited amyloid burst directly monitored by isothermal titration calorimetry. Ikenoue T, Lee, YH, Kardos J, Yagi H, Ikegami T, Naiki H, Goto, Y. (2014) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 111, 6654-6659.

蛋白質構造形成研究室



# 機能構造計測学研究室

教	授	藤原	敏道
准教	牧授	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カテラヘルツ波 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 4)



図2:<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C HSQC スペクトルと NMR が示す互作用するユビ 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 2)



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 3)

#### 【文献】

- 1. Utilization of paramagnetic relaxation enhancements for high-resolution NMR structure determination of a soluble loop-rich protein with sparse NOE distance restraints. Furuita K, Kataoka S, Sugiki T, Hattori Y, Kobayashi N, Ikegami T., Shiozaki K, Fujiwara T, Kojima C (2015) *J. Biomol. NMR*, **61**, 55-64.
- Utilization of lysine <sup>13</sup>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.
- **3.** Secondary Structural Analysis of proteins based on <sup>13</sup>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.
- 4. 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.

蛋白質結晶学研究	究室
----------	----

教	授		栗栖	源嗣
准教	敎授		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 MVP 1 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  $b_{6f}$  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.

蛋白質結晶学研究室



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(繋留)・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、そしてホスホイノ 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】

- 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
- 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. Membrane-anchored human Rab GTPases directly mediate membrane tethering *in vitro*. Tamura N, Mima J (2014) *Biol Open* **3**, 1108-1115.
- 2. Multiple and distinct strategies of yeast SNAREs to confer the specificity of membrane fusion. Furukawa N, Mima J (2014) *Sci Rep* **4**, 4277.
- **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.
- 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
特任助教	寺澤	匡博

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、相同組換えと非相同末端結合のメカ 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 DNA2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】

- DNA damage response clamp contributes to chromosomal assembly of ZMM-SIC pro-crossover factors during meiosis. Shinohara, M, Hayashihara, K., Grubb, J.T., Bishop, D.K., and Shinohara, A. (2015) *J. Cell. Sci.* **128**, 1494-506.
- Canonical non-homologous end joining in mitosis induces genome instability and is suppressed by M-phase specific phosphorylation of XRCC4 via CDKs. Terasawa, M., Shinohara A., and Shinohara, M. (2014) *PLoS Genetics*, **10**, e1004563, 2014.
- Dot1-dependent histone H3K79 methylation promotes the formation of meiotic double-strand breaks in the absence of histone H3K4 methylation in budding yeast. Bani Ismail, M., Shinohara M. and A. Shinohara. (2014) *PLoS One.* 9, e96648.
- 4. 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.
- Saccharomyces cerevisiae Srs2 helicase disassembles Rad51 from meiotic chromosomes. Sasanuma, H., Furihata Y., Shinohara, M. and Shinohara, A. (2013) *Genetics*, 194, 859-872.
- 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.
- 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.

ゲノム - 染色体機能研究室



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 ットワークの中枢(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,Fox0,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.
- 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.
- 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.

神経発生制御研究室

分子発生学研	f究室	J
教 授 准教授	古川	貴久
助教技術職員	佐貫	理佳寿典



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

子

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お 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)
- 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:超高圧電子顕微鏡による三次元トモグラフィー解析 (大阪大学超高圧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網膜のリポ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. Protein-4.1G-Mediated Membrane Trafficking Is Essential for Correct Rod Synaptic Location in the Retina and for Normal Visual Function. Sanuki R et al. (2015) *Cell Rep* **10**, 796–808.
- 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.
- 3. 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.
- 4. miR-124a is required for hippocampal axogenesis and retinal cone survival through Lhx2 suppression. Sanuki et al. (2011) *Nature Neuroscience* **14**, 1125-1134.
- 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.

分子発生学研究室

# 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
- 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ヘリクルートされて 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. Struc. Mol. Biol.* **18**, 213-221.
- 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.

細胞核ネットワーク研究室

# 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 代謝とその調節機構の研究を行っている。特に、カル ノシン等のジペプチドを分解するジペプチダーゼ CN2 を中心に、その構造と機能を明らかにし、それを通じ て生理的な役割、特に体内恒常性維持機構との関連を 明らかにしようとして解析を行っている。最近では、 蛋白質一蛋白質、あるいは蛋白質ーリガンド複合体の 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解析して 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) プロテオミクスによる生体試料の分析法の開 発とその生理学、病理学、診断学への応用
- 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



**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 6)。







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 7)。

### 【文献】

- Carnosine and the control of blood glucose. Okumura N. et al. (2015) in Food and Nutritional Components in Focus, RSC publishing.
- Carnosine dipeptidase II. Okumura N (2013) in Handbook of proteolytic enzymes, 3rd ed., 1596-1600, Elsevier.
- 3. Diversity in protein profiles of individual calcium oxalate kidney stones. Okumura N, et al. (2013) *PLos One* **8**, e68624.
- 4. 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.
- 5. 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.
- Structural basis for substrate recognition and hydrolysis by mouse carnosinase CN2. Unno H, *et al.* (2008) *J. Biol. Chem.* 283, 27289-27299.
- 7. 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.

体内環境統合蛋白質研究グループ

# 蛋白質国際統合研究部門

客員教授

## 外国人客員 PI 研究室

Matthias RÖGNER

客員教授 Thomas HAPPE

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

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

Research in the laboratory of Matthias Rögner focuses on the structure, function, regulation and biogenesis of energy transducing membrane proteins from cyanobacteria. Topics involve dynamics and adaptations of bioenergetic processes in the thylakoid membrane in response to environmental signals both on the level of individual proteins, their (transient) interaction partners and on the level of membrane composition. First, inter-molecular interactions of the electron transfer complex between PhotosystemI and Fd from Thermosynechococcus elongatus were analyzed by the transferred cross-saturation method of NMR and X-ray crystallography. Most recently, NDH-1 subtype of the complex from а Thermosynechococcus elongatus, NDH-S, which is involved in a unique inorganic C-concentration mechanism, was crystallized in collab. with the Kurisu group (IPR). Additionally, the structure of recombinant CupS was solved by NMR in collaboration with T. Ikegami (IPR), including a model for its interaction with the transmembrane subunits of the complex (1, 2). Also, the solution structure of the Cyt. b<sub>6</sub>f-complex subunit PetP, which is specific for cyanobacteria and red alga and regulates linear vs. cyclic photosynthetic electron transport, was determined for the first time by NMR.

The Happe group analyzes the anaerobic metabolism of the green alga Chlamydomonas reinhardtii in all its aspects. They also study structure-function relationships of Fe-Fe hydrogenases including a detailed characterization of the active center (H-cluster) and the catalytic turnover process. A novel in vitro maturation assay was established leading to semi-artificial hydrogenase with high catalytic activity (4-6). The structure of these novel biocatalysts was recently solved together with the Kurisu group (Fig. 1).

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<sub>2</sub>-fixation (Fig. 2). Prerequsite is the re-routing of photosynthetic electrons by modifying interactions between Ferredoxin (Fd) and FNR on the one side and Fd with hydrogenase (H<sub>2</sub>ase) on the other. For this purpose, various FNR-mutants have been designed in coop. with T. Hase (IPR) and characterized by in vitro activity assays and interaction studies (ITC, with the Ikegami-group, and SPR). The most promising mutants have recently been transformed into Synechocystis PCC 6803 and are now under evaluation.

### **Current Research Projects**

- Structural dynamics of cyanobacterial thermophilic NDH-1 complexes (Ref. 1+2) & Cyt.  $b_{d}f$ -complex. 1)
- Strategies for designing H<sub>2</sub>-producing cyanobacterial 2) model cells (Ref. 3).
- 3) Photobiological  $H_2$  production in green algae, cell metabolism and signaling under anaerobiosis (Ref. 4).





Prof. RÖGNER

Prof. Happe

4) Structure-function relationships of natural and semiartifical Fe-Fe hydrogenases, ferredoxins and maturases (Ref. 5+6).



Fig.1. Crystal structures of the catalytic center of active and inactive semiartifical [FeFe]-hydrogenase maturated in vitro with different synthetic 2Fe complexes of the kind  $Fe2[\mu-(SCH_2)_2X](CN)_2(CO)_4^2$ . The central group of the dithiolate bridge is indicated next to the respective structure.



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<sub>2</sub>-fixation and H<sub>2</sub>-production, guided by affinity design of Fd vs. FNR and hydrogenase, respectively. (3)

### [References]

- Keterences J
   Korste A, Wulfhorst H, Ikegami T, Nowaczyk MM, Stoll R (2015) Solution structure of the NDH-1 complex subunit CupS from *Thermosynechococcus elongatus* BBA Bioenergetics, accepted doi:10.1016/j.bbabio.2015.05.003
   Korste A, Wulfhorst H, Ikegami T, Nowaczyk MM, Stoll R (2015) <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C and <sup>15</sup>N chemical shift assignments of the NDH-1 complex subunit CupS. Biomol NMR Assign 9:169-171
   Römer M (2012) Matchelia
- 9:169-171
  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. Feselborn I. Lambertz C. Adamska A. Simmons T. Berggren
- Natl. Acad. Sči. USA. 110: 10854-10859
  5. 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.
  6. Rumpel S., Siebel J.F., Fares C., Duan J., Reijerse E., Happe T., Lubitz W. and Winkler M. (2014) Enhancing hydrogen production of microalgae by redirecting electrons from photosystem I to hydrogenase. Energy & Environmental Science 7: 3296–3301
- Science 7: 3296–3301

外国人客員 PI 研究室

# 外国人客員 PI 研究室

特任准教授 Damien HALL

(Research School of Chemistry, The Australian National University. Building 137, Acton, 2601. Canberra, ACT. AUSTRALIA).

連絡先 E-mail: damien.hall@anu.edu.au

Research in the Hall laboratory is concerned with the physical study of important biochemical processes related to disease states. One example of this coupled science/medicine research program is the study of amyloid formation and its relationship to the spectrum of amyloidosis diseases [1,2]. Amyloid fibers are linear protein aggregates capable of being formed from various peptides and proteins [2,3]. In their most basic form, amyloid fibers have dimensions characterized by a width of 4-20 nm and a length in the nanometer to sub-millimeter range [2,3]. Peptide/protein monomeric units are joined by inter-peptide beta-sheets formed along the long axis of the fiber. The designation of amyloid is conferred upon a protein aggregate if, in addition to displaying fiber like structure, it possesses specific dye binding capabilities and a cross-beta X-ray fiber diffraction pattern [1,2]. Although amyloid formation is coming to be thought of as a potentially common property of most, if not all proteins, in medicine there are only twenty-seven distinct peptides that are known to be associated with an amyloidosis disease state [1,4]. These twenty-seven basic forms of amyloidosis (and their mutational variants) display a huge diversity in behaviors with respect to the pathophysiology of disease progression, with some showing tissue/organ specificity, while others tend towards non-specific dispersal of amyloid throughout the body. In general much of what we know (or think we know) about amyloid and its relationship to disease is based on qualitative experimental observation [1,5]. This is partly due to the general complexity of the systems studied, the difficulties of performing quantitative measurement in patients, and the limitations associated with the methodological approaches employed to study these processes. Work in the Hall laboratory is focused on sharpening up some of these foundations by approaching the topic from a biophysical perspective i.e. experiments interpreted through the lens of a constraining mathematical model [1-8]. Using a combination of experimental/computational approaches we would like to, in combination with Japanese colleagues at the IPR, explore the following topics,

### [Current Research Programs]

1) Efficient means for fractionating and purifying heterogeneous amyloid fiber samples [2,3]

2) Non-subjective methods for characterizing gross amyloid structural properties using AFM and TEM [3]

3) Examine amyloid fiber breakage position effects as determinants of amyloid fiber behavior [**5**,**6**]

4) Placement effects of peptides within larger polypeptide chains as determinants of amyloid growth [5,6].

5) Spatial modeling of amyloidosis disease progression using computation and in vivo imaging data [1,6,7].



6) Elucidation of peptide structural precursor states of amyloid using NMR measurements.

7) Construction of an arc-length distance matrix data base for all proteins in the PDBj **[1,8]**.

8) Systematic application of a classification scheme for defining the surface chemical properties of amyloid [1].

### [References]

- 1. D Hall, H Edskes (2012) Computational modeling of the relationship between amyloid and disease. Biophysical reviews 4: 205-222.
- D Hall. (2012) Semi-automated methods for simulation and measurement of amyloid fiber distributions obtained from transmission electron microscopy experiments. Analytical biochemistry 421: 262-277
- D Hall, L Huang (2012) On the use of size exclusion chromatography for the resolution of mixed amyloid aggregate distributions: I. equilibrium partition models. Analytical biochemistry 426: 69-85.



Fig. 1. (A,B) Theoretical and experimental modeling of amyloid migration through a size-exclusion chromatography column.[3] (C) Semi-automated analysis of electron microscopy measurements of insulin derived amyloid fibers using the ADM software [2].



Fig. 2. Description of a new protein distance matrix based on surface arc-length that is relevant to the interaction of non-structured polymers (such as intrinsically disordered proteins) with globular proteins [8]

- 4. K Sasahara, D Hall, D Hamada (2010) Effect of lipid type on the binding of lipid vesicles to islet amyloid polypeptide amyloid fibrils. Biochemistry 49: 3040-3048.
- 5. D Hall, H Edskes. (2009) A model of amyloid's role in disease based on fibril fracture. Biophysical chemistry 145: 17-28
  6. D Hall, N Hirota. (2009) Multi-scale modelling of amyloid
- D Hall, N Hirota. (2009) Multi-scale modelling of amyloid formation from unfolded proteins using a set of theory derived rate constants. Biophysical chemistry 140: 122-1285.
   D Hall, J Kardos, H Edskes, JA Carver, Y Goto (2015) A
- D Hall, J Kardos, H Edskes, JA Carver, Y Goto (2015) A multi-pathway perspective on protein aggregation: Implications for control of the rate and extent of amyloid formation FEBS letters 589: 672-679.
   D Hall, S Li, K Yamashita, R Azuma, JA Carver, DM Standley
- 8. D Hall, S Li, K Yamashita, R Azuma, JA Carver, DM Standley (2014) A novel protein distance matrix based on the minimum arc-length between two amino-acid residues on the surface of a globular protein. Biophysical chemistry 190, 50-55.



招へい教授 山崎 俊夫

連絡先 Tel: 045-503-9262; Fax: 045-503-9641; E-mail: toshio.yamazaki@riken.jp

本研究室は、溶液および固体核磁気共鳴法を用いて、 主に生命分子の構造や機能を明らかにする研究を行 っている。また、それに必要な測定法の開発を合わせ 行っている。

【研究課題】

- 1) 生命分子の固体 NMR による研究
- 2)構造変化を溶液 NMR でとらえる研究
- 3) NMR による生命分子の構造、相互作用研究

4) 超高磁場 NMR の開発と応用

膜タンパク質など固体的環境にある生命分子を観 測するには固体 NMR は有効な手段である。結晶法 に比べ、本来の環境を維持したまま測定できること、 構造的または環境的に不均一系でも測定できるな ど、入り口の広さを特長としたいところだ。溶液 NMR と比べて、分子量依存の困難度が緩いので、 複合体の部分を観測することも期待される。近年、 装置と実験法の改善により、質の高いスペクトルが 得られるようになって、複雑な膜タンパク質の構造 や挙動を少しずつ解析できるようになってきた。

Aquaporin Z は大腸菌由来の水チャンネルタンパ ク質である。231 アミノ酸は、固体 NMR としては とてもチャレンジングな大きさである。固体 NMR 測定のためには、<sup>13</sup>C, <sup>15</sup>N で標識する必要があり、 隣り合う <sup>13</sup>C, <sup>15</sup>N 原子を順につないでいくことで NMR 信号の帰属を得る。溶液 NMR との違いとし て、1H を含まないので、信号分離に難がある。そ こで、2次元で信号を分離して、次につないでいく 方法 (つまり 3 次元 NMR)を組み合わせる。 N-CA-CO とつなぐ NCACX 法、CA-CO-N とつなぐ NCOCX 法、CO-N-CA とつなぐ CANCO 法の組み 合わせて、1 残基次の NMR 信号に至る。



図1:3 つの3 次元NMR 法で主鎖の信号を連鎖帰属する

実際には、信号が2次元でも区別できなく、帰属を 続けられなくなることが多発してしまう。4原子を つなぐ測定法を組み合わせ先につなぐことも必要に なる。それでも膜貫通へリックスはアミノ酸配列や 構造が一様なので、帰属が困難である。それ以外の



部分は帰属が進んでいる。膜外の部分は多様な機能 を担う場合が多く、薬との相互作用解析にも重要性 が高い。Aquaporin Zの場合でも化合物との相互作用 を観測することに成功している。帰属が確定して結 合部位を同定することが1つの目的である。



図2: Aquaporin Zの化合物によるNMR信号の変化を3Dスペク トルで個別に判定する。700MHz NMR 3.2mm HCN probe で測定 した。

結晶構造既知のタンパク質ではあるが、帰属によっ て得られた化学シフトの中に大きく変化したものが あり、膜中での構造を検討するべき部位もありそう である。解析を進めているところである。

現在の標準的な実験法では、感度や分解能の面で 不十分で、試料も測定もコストの高い状態である。 より高感度にさらに分離する技術として、超高磁場 (文献1)や1H観測が進んでいる。DNPは特に期待の大 きい革新である。広い範囲の膜タンパク質と複合体 内のタンパク質を平易に解析できるようになると思 われる。

#### 【文献】

1. Achievement of 1020MHz NMR. Hashi K et al. (2015) J. Magn. Res. in press.

国内客員研究室





### 客員教授 月原 冨武

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して来た。現在は、 ミトコンドリア内膜の呼吸鎖複合体の構造・機能研 究に取り組んでいる。

### 【研究課題】

- 1) ミトコンドリアの構造生命科学
- 2) 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



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 0-0 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物陰イオンで有る 事が確定した。

### 【文献】

- 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.
- Bovine cytochrome c oxidase structures enable O2 reduction with minimization of reactive oxygens and provide a protonpumping gate. Muramoto *et al.* (2010) PNAS. 107, 7740-7745.
- 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.
- 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.
- Determination of damage-free crystal structure of an X-raysensitive protein using an XFEL. Hirata *et al.* (2014) *Nat Methods.* 11, 734-736.
- Higd1a is a positive regulator of cytochrome c oxidase. Hayashi *et al.* (2015) *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **112**, 1553-1558.

月原研究グルーフ

# 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した 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、時代の要請に応え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ーのハブとなる役割を果たしている。



# 機能・発現プロテオミクス研究室

教	授	高尾 敏文
助	教	Caroline Donzeli Pereira

### 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

### 【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



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。



Posttranslational Modifications of Wnt Protein -Wnt Lipid Modifications: Not as Saturated as We Thought-(Takada R et al, 2006; Yamamoto H et al, 2013, 2015)



安定同位体 <sup>18</sup>0 標識による β2-ミクログロブリンの脱アミド化及び異性化反応の検出 (Fukuda M & Takao T 2012)

### 【文献】

- 1. Basolateral secretion of Wnt5a in polarized epithelial cells is required for apical lumen formation. Yamamoto H, et al (2015) *J Cell Sci.* **128**, 1051.
- 2. The apical and basolateral secretion of Wnt11 and Wnt3a in polarized epithelial cells is regulated by different mechanisms. Yamamoto H, et al (2013) *J Cell Sci.* **126**, 2931.
- 3. Identification of cargo proteins specific for importin- $\beta$  with importin- $\alpha$  applying a stable isotope labeling by amino acids in cell culture-based in vitro transport system. Kimura M, et al (2013) *J Biol Chem* **288**, 24540.
- 4. 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. Kimura M, et al (2013) *Mol Cell Proteomics* **12**,145.
- 5. Quantitative Analysis of Deamidation and Isomerization in β2-Microglobulin by <sup>18</sup>O Labeling. Fukuda M & Takao T (2012) *Anal. Chem* **84**, 10388.
- 6. Mono-unsaturated Fatty Acid Modification of Wnt Protein: Its Role in Wnt Secretion. Takada R, et al. (2006) *Dev. Cell* **11**, 791.

機能・発現プロテオミクス研究室



## 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 熊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 る構造生物学の手法は 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数多くあ 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いては、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3:プレキシン受容体(灰色)に対するアゴニスト 抗体(緑、水色)の負染色電顕イメージングによ るエピトープマッピング

### 【文献】

- Structural basis for amyloidogenic peptide recognition by sorLA. Kitago Y, Nagae M, Nakata Z, Yagi-Utsumi M, Takagi-Niidome S, Mihara E, Nogi T, Kato K, Takagi J. (2015) *Nature Struct. Mol. Biol.* 22, 199-206.
- Giant cadherins Fat and Dachsous self-bend to organize properly spaced intercellular junctions. Tsukasaki Y, Miyazaki N, Matsumoto A, Nagae S, Yonemura S, Tanoue T, <u>Iwasaki K</u>, and Takeichi M. (2014) *PNAS*,111(45), 16011-16016.
- 3. New constructs and expression of proteins: Making things better. Takagi, J. and Tate, CG. (2014) *Curr Opin Struct Biol.* 26:iv-vi.

分子創製学研究室

超分子構造解構	<b>f</b> 学研究室
教 授 准教授 助 教(兼) 助 教 特任助教 特任助教(兼)	中川 敦史 鈴木 中 市 米樹 天野 まゆみ 竹下 第 王 学 大 大 で 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、

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

本研究室では、X線結晶構造解析法を用いて、数多く の蛋白質や核酸などの生体高分子が会合して働くイ 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、膜電位センサー蛋白質などの 生物科学的に重要な蛋白質の構造生命科学研究を行 っている。さらに、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
- 3) 生体超分子複合体や微小結晶からのデータ処理 技術の開発
- 4) X線自由電子レーザーを利用した球状ウイルス の単粒子構造解析法の開発



図1: SPring-8の生体超分子複合体構造解析ビームライン(SPring-8BL44XU). 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。



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 一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) *Nat. Struct. Mol. Biol.* **21**, 352-357.
- 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) *Nat. 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.

教授

准教授

技術専門職員

助教

蛋白質情報科学研究室



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 GPGPU 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。

中村

金城

土屋

小佐田

春木

高史

玲 裕子

【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 ルギーを得るための統計力学アルゴリズムと新 規な高速の分子動力学計算手法の開発、および それらの応用による分子シミュレーション研究



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(C)。同定された低分子、蛋白質、 核酸を含む蛋白質の基質に対する基本的構造モチーフ(A) の組み合わせによって定義される。3つのコンポジット構 造モチーフは、どれも同一のFAD 結合の基本的構造モチー フ(N2)を共有する。(文献 1)



A. 2つの環上のノードは Ets1 ダイマー中のそれぞれのモ ノマーのアミノ酸残基を表し、ノードを結ぶエッジは蛋白

質内および蛋白質間の近接するアミノ酸残基および蛋白質 -DNA 塩基間において、高い正の分子運動の相関値があるペ アを表す。下側のピンクのノードは DNA の塩基を表す。B. ネットワーク図(A)に対応する 3 次元分子構造中の原子間 の相互作用。大きな Betweenness 値(ネットワーク中のノ ードの重要性を表す)を持つ原子を球で表示。(文献 5)



図 3 : V-AUS (Virtual-system coupled Adaptive Umbrella Sampling)法によって得られた2本のアルツハ イマー・ペプチドのホモ・ダイマー形成における300Kで の自由エネルギー地形とその構造多型。横軸はペプチド中 心間の距離、縦軸は方向単位ベクトルの内積で、グラフ中 の色が自由エネルギー値。左上の赤丸が結晶構造に対応す る。(文献6)

### 【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. 3D flexible alignment using 2D maximum common substructure: dependence of prediction accuracy on target-reference chemical similarity. Kawabata T, Nakamura H, (2014) J. Chem. Info. Model. 54, 1850-1863.
- **3.** High-resolution modeling of antibody structures by a combination of bioinformatics, expert knowledge, and molecular simulations. Shirai H, Ikeda K, Yamashita K, Tsuchiya Y, Sarmiento J, Liang S, Morokata T, Mizuguchi K, Higo J, Standley DM, Nakamura H, (2014) *Proteins* **82** 1624-1635.
- **4**. The Zero-multipole summation method for estimating electrostatic interactions in molecular dynamics: analysis of the accuracy and application to liquid systems. Fukuda I, Kamiya N, Nakamura H (2014) *J. Chem. Phys.* **140**, 194307.
- A Novel Approach of Dynamic Cross Correlation Analysis on Molecular Dynamics Simulations and its Application to Ets1 dimer–DNA Complex. Kasahara K, Fukuda I, Nakamura H, (2014) PLoS One 9, e112419.
- 6. Virtual-system coupled adaptive umbrella sampling to compute free-energy landscape for flexible molecular docking. Higo J, Dasgupta B, Mashimo T, Kasahara K, Fukunishi Y, Nakamura H, (2015) *J. Comput. Chem.*, in press.

蛋白質情報科学研究室



### 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	纹		東浦	彰史
技術	i専F	門職員	(兼)	乗岡	尚子
技術	i専F	門職員	(兼)	川上	恵子
技術	職員	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

### 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】

 Determination of damage-free crystal structure of an X-ray-sensitive protein using an XFEL. Hirata K, Shinzawa-Itoh K, Yano N, Takemura S, Kato K, Hatanaka M, Muramoto K, Kawahara T, Tsukihara T, Yamashita E, Tono K, Ueno G, Hikima T, Murakami H, Inubushi Y, Yabashi M, Ishikawa T, Yamamoto M, Ogura T, Sugimoto H, Shen J-R, 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。



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。

Yoshikawa S, Ago H (2014) *Nat. Methods* **11**, 734-736.

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

### 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】

- 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 型核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. Latest approaches for efficient protein production in drug discovery. Sugiki *et al.* (2014) *Expert Opin. Drug Discov.* **9**, 1189-1204.
- 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 エナジ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。

- 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、生物有機材料や細胞内の多型性の超分子複 合体の解析を行う。
- 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ナジーフィルター を備えたクライオ電子顕微鏡.

### 【文献】

1. Giant cadherins Fat and Dachsous self-bend to organize properly spaced intercellular junctions. Tsukasaki Y, Miyazaki N, Matsumoto A, Nagae S, Yonemura S, Tanoue, T, Iwasaki K, and Takeichi M. (2014) *Proc. Natl. Acad. Sci.*,**111**(45), 16011-16016.

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** 



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。

### <sup>データベース開発研究室・</sup> 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/ 108789 1

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/) ウェブサイトのトップページ



### <sup>データベース開発研究室</sup> PDBj-BMRB グループ(藤原、児嶋)

連絡先 Tel: 06-6879-8598; Fax: 06-6879-8599; E-mail: bmrbhelp@protein.osaka-u.ac.jp; URL: http://bmrbdep.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:/bmrb.protein.osaka-u.ac.jp/).

> > データベース開発研究室

### P

### 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。

ー方、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 19FNMR 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、19F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。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



として加えた。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。昨年度は、購入したカイネース2種類 (JAK3, GSK3β)についてヒット化合物を同定した。キ ナーゼドメインのしかもATPサイトにはまる化合 物を用いて拮抗阻害をみることで、選択的に化合物を 取得できるが、面白いこと特定なフラグメントがAT P 結合サイトのタンパク構造の微妙な差を認識して ヒットしていることが示唆されている。また、本年度 は、今までのフラグメント選択法と全くことなる横浜 理研の本間先生<sup>1)</sup>の全く異なる新たなフラグメント 選択方法で選択した 250 フラグメントを機能構造計 測学系研究室で購入していただいたものと組み合わ せることにより。当初目的とした、産学両方で利用で きる約 500 オリジナルフラグメント蛋白研ライブラ リーが構築することができた。また、FBDD の場合、 結合モードをX線で決定することが創薬で必要とさ れているが、親和性が弱いため複合体結晶が取得でき ない場合も多い、そこで、どちらの方向にのばせばさ らに親和性が高められるかということはNMR共有 プラットホーム特定課題を利用してクライオ QCI-F が装備された理研NMRを使うことにより19F核含有と いう特徴を活かし、19F核を利用したリガンドの結合 モードの決定法を NMR によって確立することを目指 す。これにより、X線がとれない段階の弱い親和性し かもたないフラグメントヒットの向きからさらに親 和性を 10 倍あげることができれば、複合体結晶を得 られる可能性をたかめたい。さらに今年度は、蛋白研 究所の保有する膜タンパク質にも範囲をひろげ、一次 スクリーニングに NMR と TSA をうまく組み合わせ、膜 タンパク質に対するフラグメントの相互作用検出に も拡張したいと考えている。



図1. フラグメントヒットの一例

1) Homma, T et al. (To be submitted)

#### 【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

産学・国際連携研究室

# 主要装置

1. 汎用計算機システム



 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



 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. ウルトラミクロトームシステム 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)
- 24. タンデム質量分析計
- 25. 生体分子相互作用解析装置オクテ ット

主要装置



建物配置図

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」で阪大ロ下車徒歩 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

案内図

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



