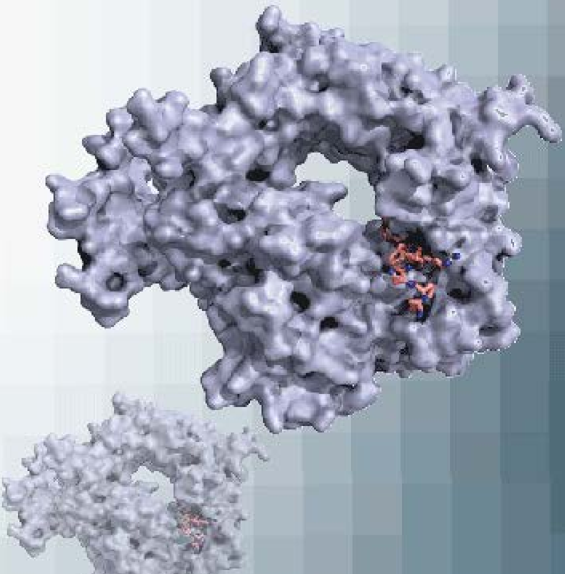
大阪大学蛋白質研究所要覧 2016

INSTITUTE for PROTEIN RESEARCH
OSAKA UNIVERSITY



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。2016年4月には新たにこのマルチスケール研究のために多階層蛋白質統合研究部門を設置して4研究部門16研究室とし、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研究室および2016年から加わった2つの寄附研究部門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ってまいりました。そして2016年4月に拠点活動の継続が認められ、クライオ電子顕微鏡を用いた共同利用・共同研究も開始され、マルチスケール構造生命科学の世界拠点を目指した新たな活動を始めております。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多階層の生命科学研究がなされる「マルチスケール構造生命科学」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、システム生物学や一分子計測の専門家も加わり、生命科学の新たなフェーズの基礎研究にさらに邁進する一方、大学の枠を超えた学生・大学院生の教育および若手研究者の人材育成を実践していきます。また、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、企業からの寄附金に基づく寄附研究部門の活動を通じて、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 3 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。

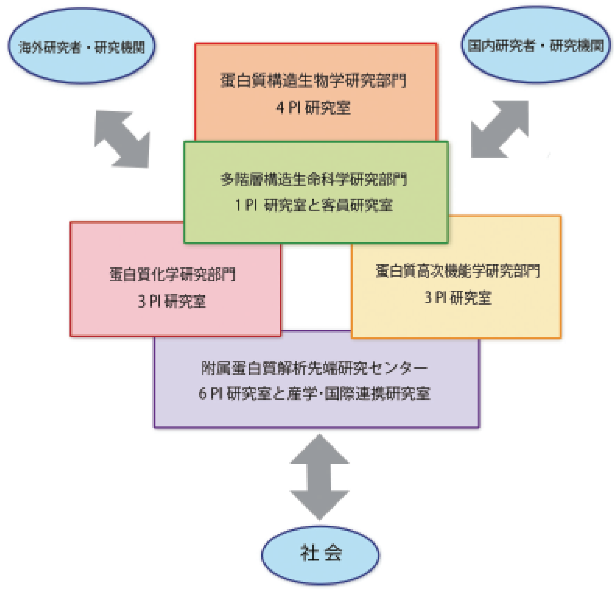
2) 共同利用･共同研究拠点として、国内外の研究者に研究と交流の場を提供して共同研究を進め、蛋白質構造データバンク(PDB)等のデータベースの開発･運営を行って、研究者コミュニティーおよび社会に対して広く蛋白質科学の振興をはかること。

3)共同利用･共同研究拠点の仕組みを活かして、大学さらには国の枠を超えた学生･大学院生の教育および若手研究者の人材育成を実践していきます。

このような理念に基づき、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。また、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の生命科学に貢献するとともに、アジ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、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ました。そして 2016 年 4 月には拠点活動の継続が認められ、クライオ電子顕微鏡を用いた共同利用･共同研究も開始され、多階層蛋白質統合研究部門を設置してマルチスケール構造生命科学の世界拠点を目指した新たな活動を始めております。

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、2016 年度には、企業からの寄附金に基づく 2 つの寄附研究部門を新規に設立し、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していきます。



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 年および 2016 年に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継続的に認定がなされ、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。さらに 2016 年度には多階層蛋白質統合研究部門と 2 つの寄附研究部門が開設され現在の生命科学の新たな潮流であるマルチスケール構造生命科学を推進する一方、システム生物学や一分子計測などの新たな研究分野にも対応しております。

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 ㎡）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 ㎡）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 ㎡）及び機械棟（644 ㎡）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 ㎡）及び超伝導核磁気共鳴装置棟（267 ㎡）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 ㎡）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）
2016	蛋白質研究共同利用・共同研究拠点の継続認定 多階層蛋白質統合研究部門の設置、マトリクソーム（ニッピ）寄附研究部門の設置 マルチスケール構造生物学（日本電子）寄附研究部門の設置

機構図

所長 Director

教授会	Faculty Meeting
運営協議会	Administrative Council
専門委員会	Panel on Joint Usage/Research

研究部門	Research Division
蛋白質化学研究部門	Division of Protein Chemistry
蛋白質有機化学研究室	Laboratory of Protein Organic Chemistry
細胞システム研究室	Laboratory of Cell Systems
蛋白質ナノ科学研究室	Laboratory of Nanobiology
オルガネラバイオロジー研究グループ	Laboratory of Organelle Biology
エピジェネティクス研究グループ	Laboratory of Epigenetics
蛋白質構造生物学研究部門	Division of Protein Structural Biology
蛋白質構造形成研究室	Laboratory of Protein Folding
機能構造計測学研究室	Laboratory of Molecular Biophysics
蛋白質結晶学研究室	Laboratory of Protein Crystallography
膜蛋白質化学研究室	Laboratory of Membrane Protein Chemistry
蛋白質高次機能学研究部門	Division of Integrated Protein Functions
分子発生学研究室	Laboratory for Molecular and Developmental Biolc
ゲノム-染色体機能研究室	Laboratory of Genome and Chromosome Functions
細胞核ネットワーク研究室	Laboratory of Nuclear Network
体内環境統合蛋白質研究グループ	Laboratory of Homeostatic Integration
多階層蛋白質統合研究部門	Division of Multiscale Integrative Protein Science
多階層構造生命科学研究室	Laboratory of Multiscale Structural Biology
客員PI研究室	Laboratory of Visiting Scientists

附属施設	Special Research Facilities
蛋白質解析先端研究センター	Research Center for State-of-the-Art Functional Protein Analysis
機能・発現プロテオミクス研究室	Laboratory of Protein Profiling and Functional Proteomics
分子創製学研究室	Laboratory of Protein Synthesis and Expression
先端計測研究室	Laboratory of Advanced Protein Characterization
超分子構造解析学研究室	Laboratory of Supramolecular Crystallography
蛋白質情報科学研究室	Laboratory of Protein Informatics
データベース開発研究室	Laboratory of Protein Databases
産学・国際連携研究室	Open Space Laboratory for Advanced Protein Science

寄附研究部門	Division of Donated Fund Research
マトリクソーム科学（ニッピ）	Division of Matrixome Research and Application
マルチスケール構造生物学（日本電子）	Division of JEOL Multiscale Structural Biology

技術部	Technology Division

事務部	Administration
庶務係	General Affairs Section
図書室	Library
会計係	Accounting Section
拠点プロジェクト班	Project Team of Joint Usage / Research Center
研究支援係	Research Support Section

広報室	Public Relations Office

卒業生担当室	IPR Alumni Office

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	﨑山	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	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 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

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
相本　三郎	関口　清俊	田嶋　正二	長谷　俊治
吉川　和明			

運営協議会委員

2016 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	北	潔	長崎大学大学院熱帯医学・グローバルヘルス研究科
教　授	深見	希代子	東京薬科大学生命科学部
教　授	濡木	理	東京大学大学院理学系研究科
主幹教授	中山	敬一	九州大学生体防御医学研究所
教　授	渡邊	嘉典	東京大学分子細胞生物学研究所
研究員	鈴木	榮一郎	(社)バイオ産業情報化コンソーシアム JBIC 研究所

学内委員

教　授	永井	健治	産業科学研究所
教　授	菊池	章	大学院医学系研究科
教　授	深瀬	浩一	大学院理学研究科
教　授	岡田	雅人	微生物病研究所
教　授	菊地	和也	大学院工学研究科

教職員

所長	**教　授**	**理学博士**	**中村　春木**
副所長	**教　授**	**理学博士**	**篠原　彰**
	教　授	**理学博士**	**後藤　祐児**
センター長	**教　授**	**理学博士**	**中川　敦史**
蛋白質化学研究部門			
蛋白質有機化学研究室			
	教　授	博士（理学）	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
	助　教	博士（理学）	山田　雅司
細胞システム研究室			
	教　授	博士（農学）	岡田　眞里子
蛋白質ナノ科学研究室			
	教　授	工学博士	原田　慶恵
オルガネラバイオロジー研究グループ			
	准教授	理学博士	中井　正人
エピジェネティクス研究グループ			
	准教授	博士（理学）	末武　勲
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
	助　教	博士（理学）	宗　正智
機能構造計測学研究室			
	教　授	理学博士	藤原　敏道
	客員教授	博士（理学）	児嶋　長次郎
	助　教	博士（理学）	松木　陽
	特任助教（常勤）（兼）	博士（薬学）	杉木　俊彦
	特任助教（常勤）	博士（理学）	江川　文子
	特任助教（常勤）（兼）	博士（理学）	原田　健一
	特任助教（常勤）（兼）	博士（理学）	深澤　隼
	特任助教（常勤）（兼）	博士（理学）	古板　恭子

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
膜蛋白質化学研究室		
独立准教授	博士（農学）	三間　穣治
蛋白質高次機能学研究部門		
分子発生学研究室		
教　授	博士（医学）	古川　貴久
准教授	博士（医学）	大森　義裕
助　教	博士（医学）	茶屋　太郎
ゲノム - 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
助　教	博士（理学）	松嵜　健一郎
特任助教	博士（理学）	CHALLA KIRAN
特任助教	博士（理学）	寺澤　匡博
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
多階層蛋白質統合研究部門		
多階層構造生命科学研究室		
教　授（兼）	理学博士	高木　淳一
准教授（兼）	博士（理学）	岩崎　憲治
寄附研究部門准教授（兼）	博士（農学）	川端　猛
特任准教授（常勤）	Ph.D.	HALL, DAMIEN RICHARD
特任助教（常勤）（兼）	博士（理学）	鈴木　博文
特任助教（常勤）（兼）	博士（医学）	海津　正賢
特任助教（常勤）（兼）	博士（理学）	宮崎　直幸
客員 PI 研究室		
招へい教授	理学博士	山崎　俊夫
招へい教授	理学博士	月原　冨武
招へい教授	理学博士	内藤　晶
招へい准教授	博士（理学）	櫻井　一正

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
特任助教（常勤）	博士（理学）	福田　正史

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（常勤）	博士（医学）	海津　正賢
特任助教（常勤）	博士（薬学）	松永　幸子
特任助教（常勤）	博士（理学）	宮﨑　直幸

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
客員准教授	博士（農学）	牧　信安
講　師	博士（理学）	佐藤　毅
助　教	理学博士	三村　直稔
助　教	博士（理学）	山下　栄樹
助　教	博士（理学）	東浦　彰史
特任助教（常勤）	博士（薬学）	杉木　俊彦

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	薬学博士	天野　まゆみ
助　教（兼）	博士（理学）	山下　栄樹
助　教（兼）	博士（理学）	東浦　彰史
特任助教（常勤）	博士（理学）	成田　宏隆
招へい教員	博士（薬学）	竹下　浩平

蛋白質情報科学研究室

教　授	理学博士	中村　春木
特任教授（常勤）	理学博士	肥後　順一
准教授（兼）	博士（理学）	金城　玲
特任准教授（常勤）	博士（理学）	福田　育夫
助　教	博士（理学）	土屋　裕子

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

准教授	博士（理学）	金城　玲
特任准教授（常勤）	博士（農学）	小林　直宏
特任助教（常勤）（兼）	博士（理学）	鈴木　博文
産学・国際連携研究室		
客員教授	博士（理学）	阪下　日登志
寄附研究部門		
マトリクソーム科学（ニッピ）寄附研究部門		
寄附研究部門教授	理学博士	関口　清俊
寄附研究部門助教	博士（理学）	藤田　和将
助教（兼）	博士（理学）	山田　雅司
マルチスケール構造生物学（日本電子）寄附研究部門		
教授（兼）	理学博士	中村　春木
寄附研究部門准教授	博士（農学）	川端　猛
招へい教員	博士（農学）	細木　直樹
招へい教員	博士（工学）	矢澤　宏次
技術部		
技術専門職員		川上　恵子
技術専門職員	修士（理学）	小佐田　高史
技術専門職員	博士（理学）	乗岡　尚子
技術職員	修士（理学）	阿部　直行
技術職員		辻井　寿典
特任技術専門職員		山下　鈴子
事務部		
事務長		小倉　康司
庶務係	係長	松永　伸一
	主任	田中　陽子
	事務職員	吉村　則子
会計係	係長	白井　隆志
	主任	栗林　貞弘
	主任	市原　正則
	事務職員	菅原　幸靖
拠点プロジェクト班	嘱託職員	佐藤　正子
研究支援係	係長	道木　宏晴
	主任	荒木　奈緒子
	事務職員	永見　一彰
広報室		
	特任事務職員	晴氣　菜穂子

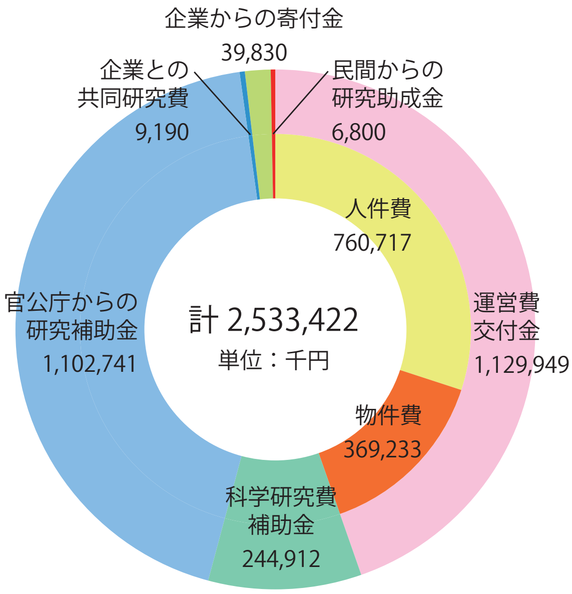
構成員／決算／教育・研究活動

構成員数

2016 年 4 月 1 日 現在

教職員	教授	10 （人）	技術職員	5
	准教授	12	特任技術職員	1
	講師	2	事務職員	12
	助教	14	嘱託職員	1
	寄附研究部門教授	1	特任事務職員	1
	寄附研究部門助教	1	技術補佐員	24
	特任教授	1	事務補佐員	19
	特任准教授	3		
	特任助教	13		
	客員教授	2		
	客員准教授	1		
	招へい教授	3		
	招へい准教授	1		
	招へい教員	1		
			計	**128**
研究員	特任研究員（常勤）	20	国際共同研究員	15
	特任研究員	14	特別研究員	5
	外国人特任研究員	3	共同研究員	144
	招へい研究員	3	Beamline	59
			Regular	76
			NMR	9
			計	**204**
学　生	学部生	9		
	大学院学生（修士課程）	30		
	大学院学生（博士課程）	63		
	研究生	3		
	計	**105**		

決算 (2015 年度)



定期刊行物

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
北條　裕信	川上　徹	佐藤　毅	朝比奈　雄也
岡田　眞里子	中井　正人	李　映昊	山田　雅司
原田　慶恵	末武　勲		宗　正智
後藤　祐児	田中　秀明		松木　陽
藤原　敏道	三間　穣治		茶屋　太郎
栗栖　源嗣	大森　義裕		北郷　悠
古川　貴久	篠原　美紀		山下　栄樹
篠原　彰	加納　純子		土屋　裕子
高尾　敏文	奥村　宣明		
高木　淳一	岩崎　憲治		
中川　敦史	鈴木　守		
中村　春木	金城　玲		

理学研究科　化学専攻

教授	准教授	講師	助教
北條　裕信	川上　徹	佐藤　毅	朝比奈　雄也
藤原　敏道	金城　玲		松木　陽
高尾　敏文			
中村　春木			

理学研究科　高分子科学専攻

教授	准教授	講師	助教
後藤　祐児	田中　秀明	李　映昊	宗　正智
栗栖　源嗣	鈴木　守		山下　栄樹
中川　敦史			東浦　彰史

医学系研究科

教授	准教授	助教
古川　貴久	大森　義裕	茶屋　太郎

生命機能研究科

教授	准教授	講師
古川　貴久	岩崎　憲治	李　英昊
高尾　敏文	鈴木　守	
高木　淳一	金城　玲	
中川　敦史		
中村　春木		

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	9	60	24
医学系研究科	0	0	1
生命機能研究科	0	3	5

研究活動

発表業績数

2011－2015 年

	2011 年	2012 年	2013 年	2014 年	2015 年
原著論文	127	128	128	108	108
総説	22	27	31	20	28
学会発表	278	279	277	306	287

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

代表

1	科学技術振興機構，先端計測分析・機器開発プログラム， 最先端研究基盤領域「先端機器開発タイプ」 超高感度スピン相関高分解能 NMR 装置開発	2015－2020
2	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　染色体軸ーループ(染色体 3D)に基づく減数分裂期の染色体機能の制御	2015－2020
3	(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高度化と統合的運用	2014－2016
4	(独)科学技術振興機構、CREST 新規細胞膜電位シグナルの構造基盤の解明	2014－2019
5	独立行政法人科学技術振興機構／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	2013－2017
6	(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	2013－2017
7	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	2012－2014
8	(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	2012－2013
9	(独)日本学術振興会、科学研究費補助金基盤研究(A) 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
10	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	2012－2016
11	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	2012－2016

12	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	2012−2016
13	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	2012−2016
14	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	2012−2014
15	(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	2012−2013
16	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	2011−2015
17	(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	2011−2013
18	(独)科学技術振興機構　戦略的創造研究推進事業 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

分担

19	文部科学省、光・量子融合連携研究開発プログラム 中性子と放射光の連携利用によるタンパク質反応プロセスの解明(光合成電子伝達系タンパク質を中心とする複合量子ビーム構造生物学)	2013−2017
20	日本医療研究開発機構(AMED)、CREST 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
21	(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) 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	2012−2016
22	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
23	(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) 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	2012−2016
24	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事業 構造生命科学データクラウドの構築運用と高度化	2012−2016
25	(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
26	(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) 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」	2011

代表的な受託研究

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・加工システムの開発	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 蛋白質構造データバンクの高度化と統合的運用	2014−2016
4	文部科学省、宇宙科学研究拠点形成プログラム 高品質結晶化技術の宇宙科学研究拠点形成	2014−2016
5	厚生労働科学研究委託事業 革新的がん医療実用化研究事業	2014−2016
6	浜理薬品工業 マイクロウェーブを用いた Peptide Chemistry 及び装置技術の習得	2014

7	日本触媒／新規ペプチド合成法の開発	2013
8	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	2013－2015
9	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	2012－2014
10	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	2012－2016
11	（独）科学技術振興機構・さきがけ 構造から迫る細胞内輸送マシナリー	2012－2014
12	（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	2012－2013
13	（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	2011-2016
14	（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
15	（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	2011－2013
16	（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	2011－2012

企業等との代表的な共同研究

1	パナソニック株式会社 VHH抗体の複合体構造予測法の研究	2016
2	（独立行政法人）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 期後期実験）と精密立体構造の解析	2015－2018
3	大日本住友製薬株式会社 電子顕微鏡を用いたタンパク質構造解析の汎用プラットフォーム構築	2015-2016
4	浜理薬品工業（株） マイクロウェーブを用いたペプチド合成技術の開発	2015
5	（独立行政法人）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	2014－2017
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	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
8	株式会社 KRI クライオ電子顕微鏡によるソフトマテリアルのイメージング	2014-2015
9	大阪ガスケミカル株式会社 クライオ電子顕微鏡によるバイオ材料のイメージング	2014-2015
10	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
11	味の素株式会社 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
12	（独立行政法人）宇宙航空研究開発機構 【月原先生分】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
13	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	2013

14	(独立行政法人)宇宙航空研究開発機構 【中川先生分】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	2011-2012
15	株式会社 ファーマフーズ 卵黄加水分解物中に含まれる生理活性物質の探索	2013-2014
16	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
17	(独立行政法人)宇宙航空研究開発機構 【中川先生分】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	2011-2012
18	(独立行政法人)宇宙航空研究開発機構 【月原先生分】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	2011-2012
19	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	2012－2016
20	(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	2012
21	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	2012
22	味の素株式会社 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
23	(株)エーザイ 薬物代謝酵素チトクローム P450 脂質膜中構造	2011-2014
24	(株)島津製作所 蛋白質の分子解析技術の開発	2011-2012
25	(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	2011-2012
26	(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	2011－2012
27	(株)ニッピバイオマトリクス研究所 ラミニン・コラーゲン等細胞接着分子の研究	2011－2012
28	独立行政法人 科学技術振興機構 両生類の再生を支えるエピジェネティクス機構の解明と応用	2011－2012
29	(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
30	(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	2011
31	(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ーレーション技術の開発	2011
32	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
33	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	2011

特筆すべき研究活動

	プログラム名/テーマ	研究期間
1	日本蛋白質構造データバンク: PDBj (PDB japan) の運用	2001－2015

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、2015 年度までに総計 2,687 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。2015 年度には、11 ヶ国（ポーランド、ハンガリー、韓国、インドネシア、台湾、タイ、マレーシア、アメリカ、イスラエル、キューバ、ベトナム）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。

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
平成 26 (2014)	79	30	65	65	12	12
平成 27(2015)	76	22	59	59	9	9

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
平成 27(2015)	15	227

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、2015 年度には次の 18 のセミナーが開かれた。

2015 年度に実施した蛋白質研究所セミナー

	タイトル	世話人	実施日
1	先端核磁気共鳴から展開する生命科学研究	藤原　敏道(阪大･蛋白質研究所･教授)、児嶋長次郎(阪大･蛋白質研究所･准教授)、池上　貴久(横浜市立大学生命医科学研究科･教授)	2015/4/28
2	JOINT SEMINAR of Institute of Tropical Disease, Universitas Airlangga and Institute for Protein Research, Osaka University. –Molecular and Cellular Life Sciences: Infectious Diseases, Biochemistry & Structualr Biology–	長谷　俊治(阪大･蛋白質研究所･教授) Ni Nyoman Tri Puspaningsih (Institute of Tropical Disease,Airlangga Univ.･Professer)	2015/5/7-8
3	生体超分子構造解析ビームラインワークショップ	中川　敦史(阪大･蛋白質研究所･教授)	2015/5/11-12
4	Nuclear organization and actin-dependent mechanisms in genome stability	原田　昌彦(東北大学大学院農学研究科･准教授)、篠原　彰(阪大･蛋白質研究所･教授)、Susa M. Gasser (Friedrich Miescher Institute for Biomedical Research,Director)	2015/5/18-19
5	「初期視覚系の神経回路･発達･可塑性」	佐藤　宏道(阪大･医学系研究科･教授)	2015/7/27
6	視覚科学フォーラム　第 19 回研究会　視覚科学の新たな展開へ向けて	永福　智志(福島県立医科大学･医学部･教授)	2015/8/19-20
7	生体超分子複合体構造解析ビームラインの現状と将来展望	中川　敦史(阪大･蛋白質研究所･教授)	2015/8/27-28
8	Establishment of Structural Biology Network in Asia (Joint International Symposium of National Cynchrotron Radiation Research Center, Taiwan Institute for Protein Research, Osaka University, Japan)	中川　敦史(阪大･蛋白質研究所･教授)	2015/9/30-10/1
9	Integrative Structural Biology for Protein Science	中村　春木(阪大･蛋白質研究所･教授、Alexander L. Breeze (Professor of Biomolecular NMR , Astbury Centre for Structural Molecular Biology , University of Leeds,UK)	2015/11/4

10	Protein Structure and Function – New Horizons of Protein Sciences Bridging Asia Pacific Regions	後藤祐児（阪大・蛋白質研究所・教授）、望月秀樹（阪大・大学院医学系研究科・教授）、荻博次（阪大・大学院基礎工学研究科・准教授）、John Carver（The Australian National University, Research School of Chemistry, Director and Professor), Damien Hall(ANU, Senior Researcher and Associate Professor of IPR, Osaka University)	~~2015/11/14-16~~
11	第6回　神経科学と構造生物学の融合研究会	貝淵　弘三（名古屋大学大学院医学系研究科・教授）、西岡　朋生（名古屋大学大学院医学系研究科・助教）高木　淳一（阪大・蛋白質研究所・教授）、中川　敦史（阪大・蛋白質研究所・教授）	2015/11/26-27
12	エピジェネティクスー分子機構から高次機能までー	田嶋　正二（阪大・蛋白質研究所・教授） 佐々木　裕之（九州大学生体防御医学研究所・教授）	2015/12/11-12
13	From protein structural science to development of therapeutics	前仲　勝実（北海道大学大学院薬学研究院・教授）高木　淳一（阪大・蛋白質研究所・教授）	2016/1/12
14	Bridging the gap: from structure to functional dynamics of photosynthesis related protein complexes	田中　秀明（阪大・蛋白質研究所・准教授） 姚　閔（北海道大学・先端生命科学研究院・教授）	2016/2/2-3
15	Introduction and overview of cryo-electron microscopy	岩崎　憲治（阪大・蛋白質研究所・准教授） 吉川　雅英（東京大学大学院医学系研究科・教授）	2016/2/19
16	構造を基盤とする蛋白質科学における未解決問題	鷹野　優（阪大・蛋白質研究所・助教）、石北　央（東京大学先端科学技術センター・教授）、米澤　康磁（近畿大学先端技術総合研究所・教授）、重田　育照（筑波大学計算科学研究センター・教授）	2016/3/1-2
17	Mechanism of Biology on the Membrane:生体膜上の生物化学	北條　裕信（阪大・蛋白質研究所・教授） 高尾　敏文（阪大・蛋白質研究所・教授） 佐藤　毅（阪大・蛋白質研究所・講師）	2016/3/3-4
18	H27 年度 PDBj＆創薬等 PF 情報拠点 VaProS 第 4 回利用講習会「生命科学のための立体構造データ・ビッグデータの使い方入門」	中村　春木（阪大・蛋白質研究所・教授）	2016/3/15

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。

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）、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））、ソウル大学校薬学大学（韓国 2015 年）
ニュージャージー州立大学ラトガース統合プロテオミクス研究センター（アメリカ 2015 年）
国立清華大学生命科学院（台湾 2015 年）

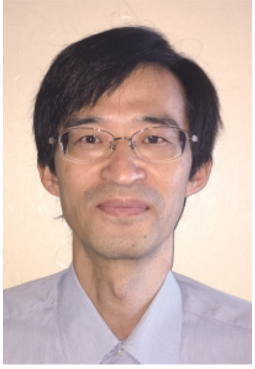
現在継続中の代表的な国際的共同研究

	国/相手方機関/代表者/テーマ
1	キューバ国立遺伝子生物工学研究センター、イリダ・エリザ・ガレイ・ペレス、デング熱ウイルスの侵入阻害剤の開発研究
2	韓国基礎科学研究所、パン　ヨン　キュウ博士、キナーゼを標的とする環状インヒビターの合成
3	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
4	オーストラリア・国立大学、ジョーン・カーバー教授、蛋白質のアミロイド線維形成
5	イギリス・ユニバーシティカレッジ、ロンドン、ヴィットリオ・ベロッティ教授、蛋白質のアミロイド線維形成
6	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
7	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
8	米国・チャン　アゲ大学、クーン･キム准教授、減数分裂期組換えの分子メカニズム解析
9	インド・インド科学教育、研究所ートリバンドラム、ケー･ニシャント准教授、減数分裂期組換えの制御解析
10	中国・上海生命科学研究院、雷　鳴 教授・テロメア結合タンパク質の構造と機能解析
11	中国・上海生命科学研究院、陈 勇 教授・テロメア結合タンパク質の構造と機能解析
12	イスラエルワイツマン科学研究所、Eran Hornstein 教授、マウス神経細胞におけるマイクロ RNA の機能解析
13	米国ワシントン大学医学部、今井眞一郎教授、転写抑制因子 Prdm13 の脳における機能メカニズムの解析
14	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
15	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
16	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
17	ポーランド、ヤギェウォ大学、ジョナサン・ガーディナー・ヘドル教授、バイオナノ技術のための改変蛋白質の構造解析
18	スウェーデン、ウプサラ大学、マーヴィン・シーベルト助教、MS2 の構造解析
19	台湾・国立成功大学、チェン　チュンジュン教授、ウイルス様粒子の構造解析
20	英国・リーズ大学 ACSMB、Sarah Harris 博士、粗視化モデルによるモータ蛋白質の解析
21	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
22	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

蛋 白 質 化 学 研 究 部 門

蛋白質有機化学研究室

教　授　　北條　裕信　(E-mail: hojo@protein.osaka-u.ac.jp)
准教授　　川上　徹
講師(兼)　佐藤　毅
助　教　　朝比奈　雄也、 山田雅司



蛋白質の機能解析は、もっぱら組換え DNA 法により調製された蛋白質を用いて行われている。しかし、D-アミノ酸により構成された蛋白質、均一な翻訳後修飾を持つ蛋白質、特異的なラベルを持つ蛋白質等、組換え法では調製困難な蛋白質も多く存在する。このような観点から、我々の研究室では、蛋白質の効率的な化学合成法の確立を目指して研究を進めてきた。基本的な戦略として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方法を用いる。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うとともに、化学合成蛋白質を用いた機能解析研究を進めている。

【研究課題】

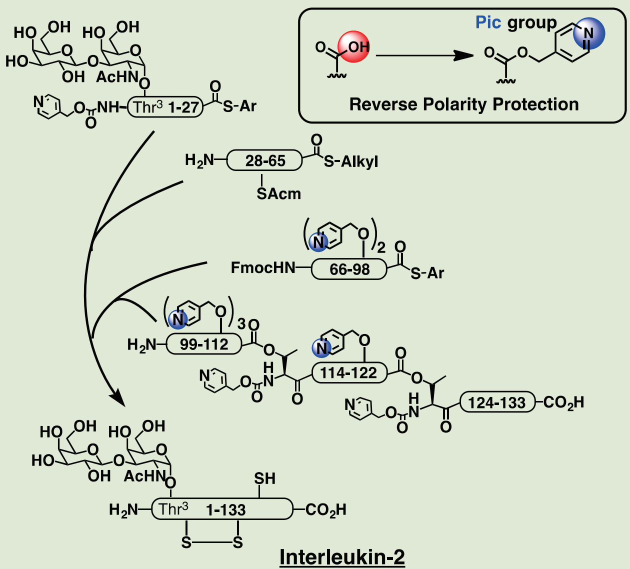
1）蛋白質、糖蛋白質合成戦略の開発
2）修飾ヒストンの合成とその機能解析
3）膜タンパク質の合成とその機能解析

【研究トピックス】

近年、ライゲーション法は大きく進歩し、蛋白質、糖蛋白質の調製手段の一つとして用いられている. 上述のように、この方法では目的とする(糖)蛋白質を幾つかのペプチドセグメントに分割して、それらを縮合する戦略を取る。その際、往々にしてセグメントの一部が高度に難溶性になり、全合成が達成できない場合が多い。創薬の重要なターゲットとなる膜貫通受容体等もその性質上高度に疎水性であり、その全合成には同様に溶解性の問題に遭遇する。

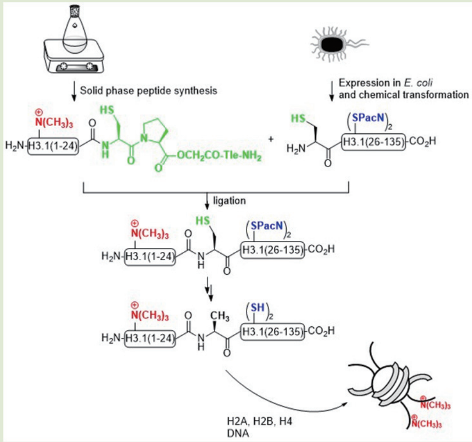
この問題を解決するため、最近我々はペプチドセグメント内の側鎖カルボン酸を塩基性のピコリルエステルとして保護し、酸性の官能基を塩基性に反転してペプチドの等電点を変化させる極性反転に基づく可溶化法を開発した。この手法を利用して、コア1型糖鎖を持つヒトインターロイキン-2の全合成に成功した(文献1)。

この手法は、他の(糖)蛋白質の合成にも適用可能であるため、現在他の蛋白質合成への応用を試みている。

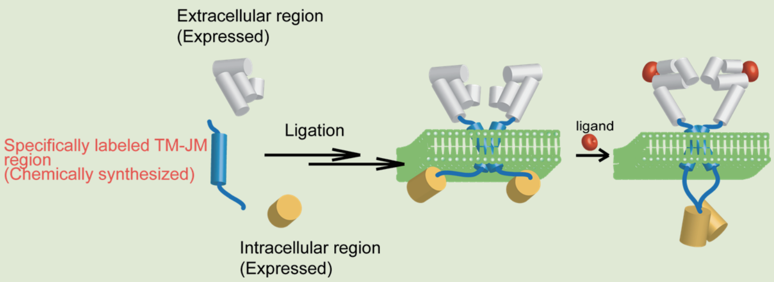


極性反転を利用したセグメント可溶化法と
IL-2 の全合成ルート

ヒストンの特異的修飾は、DNA の塩基配列によらないエピジェネティックな遺伝子発現調節に重要である。しかし、これらの修飾は多様性に富み、また不均一であるため、個々の修飾の生物学的な意味を理解することが困難である。そこで、川上徹准教授らのグループでは、均一に修飾された必トンの合成法の開発を進めている。一例として、右図に示すように生物学的な手法と化学合成法を組み合わせて均一な修飾を持つヒストンを種々調製し(文献 2)、それらの機能を調べることにより、個々のヒストン修飾の生物学的な意味を解明する研究を進めている。



化学合成法の特長の一つとして、ポリペプチド鎖の任意の部位を標識可能であることがあげられる。この特長と組換え法の持つ調製の容易さを組み合わせることにより、特定の機能を持つ蛋白質を効率的に調製することができる。その一例を下に示す。1回膜貫通受容体が、リガンドの結合に伴いどのように活性化するかは現在のところまだ詳しくわかっていない。佐藤毅講師らの研究によって、膜貫通、及び膜近傍部位の重要性が明らかになりつつある(文献 4)。そこで、膜貫通部位を部位特異的に安定同位体標識したペプチドを化学合成し、組換え法により得られた細胞外領域と化学選択的に結合して受容体を調製する研究が同氏らにより進められている。



【代表的な文献】

1. Chemical Synthesis of O-Glycosylated Human Interleukin-2 by the Reverse Polarity Protection Strategy. Asahina Y, Komiya S, Ohagi A, Fujimoto R, Tamagaki H, Nakagawa K, Sato T, Akira S, Takao T, Ishii A, Nakahara Y, Hojo H (2015) *Ang. Chem. Int. Ed.*, **54**, 8226-8230.
2. Synthesis of histone proteins by CPE ligation using a recombinant peptide as the C-terminal building block. Kawakami T., Yoshikawa R, Fujiyoshi Y, Mishima Y, Hojo H, Tajima S, Suetake I (2015) *J. Biochem.* **58**, 403–411.
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. Chemoenzymatic synthesis of hydrophobic glycoprotein: Synthesis of saposin C carrying complex-type carbohydrate. Hojo H, Tanaka H, Hagiwara M, Asahina Y, Ueki A, Katayama H, Nakahara Y, Yoneshige A, Matsuda J, Ito Y, Nakahara Y (2012) *J. Org. Chem.*, **77**, 9437-9446.

細胞システム研究室

教　授　　岡田眞里子　（mokada@protein.osaka-u.ac.jp）

本研究室では、細胞の運命決定におけるシグナル伝達系–転写ネットワークの普遍的な制御のルールを明らかにし、これらの制御機構に関する知識をヒトの疾病の治療戦略に活かすことを目的としています。 そのために、がんや免疫系の細胞システムを対象としたさまざまな定量的実験解析とともに、数理的なモデリングやバイオインフォマティクスを用いた解析を行っています。このような”システム生物学“的なアプローチを用いて、私たちはこれまで、シグナル伝達系–転写ネットワークにおけるユニークな特徴を明らかにしてきました。 細胞の分子ネットワークにおける多階層の正の協同性は、おのおのの細胞の運命決定にとって非常に重要な性質であると考えています。

【研究課題】

1） 細胞制御における NF–κB シグナル伝達系の数理解析
2） ErbB 受容体シグナルの負のフィードバック制御
3） シグナル欠損下の網羅的マルチオミクス解析
4） シグナル早期応答のエピゲノムランドスケープ

【研究トピックス】

細胞内シグナル伝達系は転写因子の活性化を決定する重要な機能を持ち、そのダイナミクスは特定の細胞形態と関連が深いことが指摘されています。私たちの先行研究においては、ERK のキナーゼ活性の持続性が c–Fos 転写因子のスイッチ様活性化に重要であること、そして、この細胞内のアナログ信号のデジタル変換が細胞の質を変えるのに重要であることを示しました（Nakakuki et al. *Cell* 2010). 私たちは現在、この研究の戦略をB細胞受容体の NF–κB 転写活性の制御機構解明に応用しています。私たちは、NF–κB の特徴的なダイナミクスであるスイッチ様応答と振動に注目し、この2つの動態の制御メカニズムと細胞制御への意義を実験と数理モデルにより明らかにしようとしています。いままでに、CARMA1 アダプタータンパク質を介した TAK1 から IKK への正のフィードバック制御が NF–κB のスイッチ様活性化を引き起こすのに重要なことが明らかになっています (Shinohara et al. *Science*, 2014).。

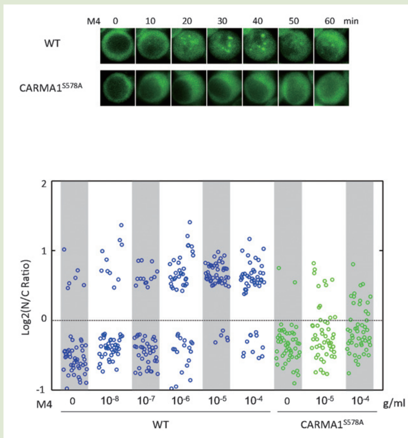


図 1. NF-κB 転写因子のスイッチ様活性化のためにはシグナル伝達系内の正のフィードバック制御が重要である。

シグナル応答の強度と持続性は自己制御機構により頑強に制御されています。その制御メカニズムのひとつは、シグナルネットワークにおける負のフィードバック制御です。私たちは、シグナルにより誘導発現される転写産物 PHLDA1 が、がんの発症に非常に重要な ErbB 受容体の活性化を抑制し、細胞全体のシグナル活性を制御する負の制御因子であることを見出しました。LC-MS 解析により、PHLDA1 は ErbB3 受容体に結合することがわかりました。数理モデル解析と一分子解析による検証実験により、PHLDA1 は ErbB 受容体のオリゴマー形成を抑制することで、ErbB 受容体シグナルの活性をテンポラルにコントロールすることが示唆されました。

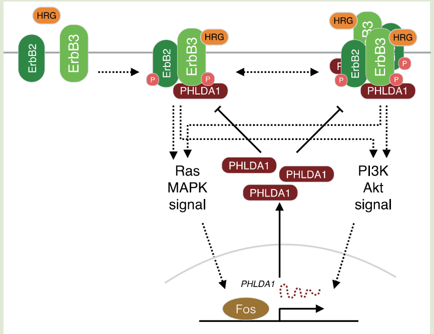


図 2. ErbB 受容体活性は PHLDA1 による負のフィードバックの時間制御を受ける。

アダプタータンパク質の CRK/CRKL は脊椎動物において最小の遺伝子ファミリーを形成しながらも、細胞の生存や発生において必須のシグナル伝達を介しています。このことから、これらのタンパク質の欠損細胞は、シグナル伝達系そのものの細胞機能を調べていくのに適した系であると考えられます。私たちは、これらの遺伝子のノックアウトマウスから得た MEF を用いて、網羅的なトランスクリプトーム、メタボローム、プロテオーム解析を行いました。このような解析により、シグナル伝達系と他の生化学反応ネットワークとの相互制御とその細胞制御への役割が明らかになると考えています（この研究は米シカゴ大学との共同研究で行っています）。

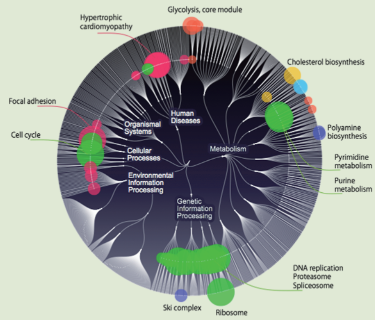


図 3. CRK/CRKL ノックアウトは、トランスクリプトームの顕著な変動を引き起こす。

【代表的な文献】

1. Promoter-level expression clustering identifies time development of transcriptional regulatory cascades initiated by ErbB receptors in breast cancer cells. Mina M, et al. (2015) *Sci. Rep.* **5**, 11999.
2. Enhancers lead waves of coordinated transcription in transitioning mammalian cells. Arner E,et al. (2015) *Science* **347**, 1010-1014.
3. Positive feedback within a kinase signaling complex functions as a switch mechanism for NF-κB activation. Shinohara H, et al. (2014) *Science* **344**, 760-764.
4. Integrated quantitative analysis of the phosphoproteome and transcriptome in tamoxifen-resistant breast cancer. Oyama M, et al. (2011) *J. Biol. Chem.* **286**, 818-829.
5. Ligand-specific c-Fos expression emerges from the spatiotemporal control of ErbB network dynamics. Nakakuki T, et al. (2010) *Cell* **141**, 884-896.
6. Ligand-dependent responses of the ErbB signaling network: experimental and modeling analysis. Birtwistle MR, et al. (2007) *Mol. Syst. Biol.* **3**, 144.
7. Quantitative transcriptional control of ErbB receptor signaling undergoes graded to biphasic response for cell differentiation. Nagashima T, et al. (2007) *J. Biol. Chem.* **282**, 4045-4056.

蛋白質ナノ科学研究室

教　授　　原田　慶恵（yharada@protein.osaka-u.ac.jp）

我々の体の中で機能している生体分子の大きさはおよそ数 nm から数百 nm であり、この大きさはちょうどナノとマクロの接点“メゾ”領域である。生体分子の住む世界と我々の住む世界の決定的な違いは、熱ゆらぎが無視できないということである。生体分子は常に大きな熱ゆらぎにさらされている。そのため、生体分子は人工機械とは異なり、熱ゆらぎを巧みに利用しながら機能していると考えられている。たとえば、RNA ポリメラーゼは DNA 上のプロモーター部位を探す時、DNA 上を1次元拡散することが知られている。このような生体分子の巧みな分子機構を明らかにすることが我々の究極の目的である。

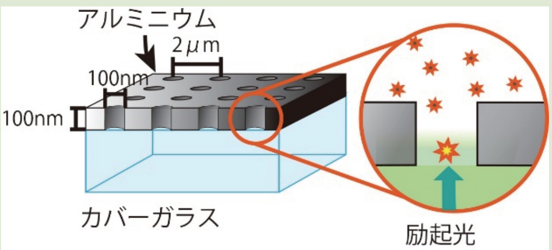
生体分子の働くしくみを知るためには、個々の分子の動きや相互作用を直接観察する方法が非常に役に立つ。そこで我々は様々な1分子イメージング法を開発し、DNA－タンパク質、タンパク質－タンパク質の相互作用の1分子イメージング測定を通して、エピジェネティクス、DNA 転写・修復・組み換えに関わるタンパク質の機能を調べている。

【研究課題】

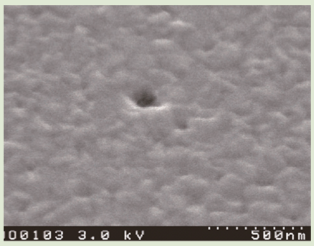
1）ナノ開口を使った生体分子間相互作用の解析
2）DNA おりがみを使った転写制御の解析
3）細胞内局所温度計測技術の開発
4）蛍光ダイヤモンドナノ粒子を使った新規 1 分子イメージング法の開発

【研究トピックス】

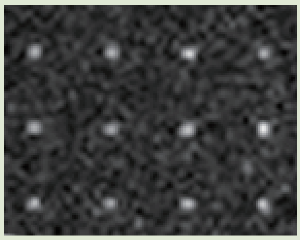
蛍光 1 分子イメージング技術は生体分子の機能解析や生体分子間の相互作用を解析する上で非常に強力な研究手段の1つである。蛍光 1 分子イメージングには全反射照明蛍光顕微鏡が広く用いられているが、溶液中の蛍光分子の濃度が 50 nM 以上になると、背景光の増加によって 1 個 1 個の蛍光分子の観察が困難になる。99 %以上の酵素の Km 値は 50 nM 以上であり、全反射照明蛍光顕微鏡による蛍光1分子イメージングでその反応を観察できるのは、基質との親和性が十分高い酵素に限られていた。そこで我々は高濃度の蛍光分子存在下で蛍光 1 分子イメージングが可能なナノ開口を作製し、それを使って生体分子間相互作用の解析を行うことにした。ナノ開口はカバーガラス表面を、直径約 100nm の穴の開いた厚さ約 100nm のアルミニウムで覆ったものである。この基板にガラス側から励起光を照射すると、励起光はその波長の半分程度の径の穴を透過することはできず、穴の底のごく狭い領域(<1 aL)のみを照らす。これによって余分な蛍光分子が励起されず背景光が激減され、全反射照明では困難な数 uM 程度の高濃度の蛍光分子存在下での蛍光 1 分子イメージングが可能になる。



ナノ開口の模式図

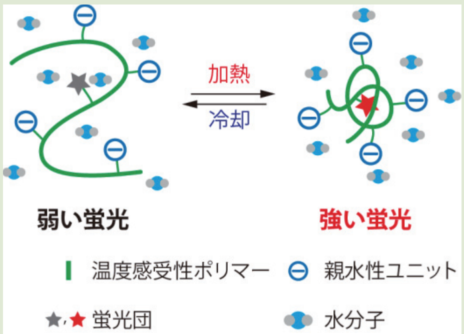


ナノ開口走査電子顕微鏡像

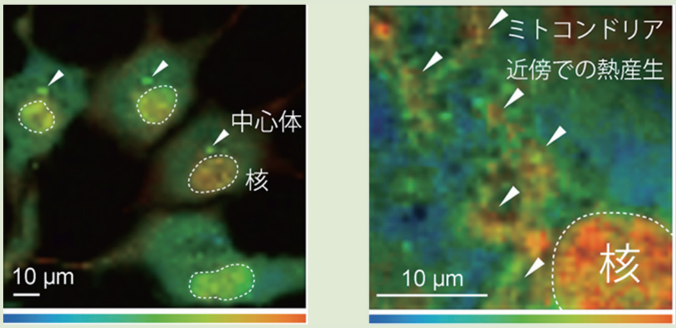


ナノ開口内の蛍光色素の像

温度は、代謝やリズムなど生理機能に重大な影響を与えている。細胞レベルで温度を感知する機構として、ヒートショック応答や、細胞外部の温度を細胞内部へ情報伝達する温度感受性チャネルが知られているが、これまでは細胞内部の温度については未知であった。そこで、我々は生細胞内に適応可能な蛍光性ポリマー温度センサーを開発し、その応答を定量的蛍光イメージング法により検出することで生細胞内の温度イメージングを達成した。その結果、細胞内部の局所的な温度が時空間的に変動するというユニークな現象を発見した。この細胞の局所的な温度変動は古典的生化学における緩慢な温度変化とは本質的に異なり、細胞内において温度変化が細胞機能の駆動力、すなわち「温度シグナリング」としての機能している可能性がある。そこで、我々は温度生物学の発展を目指し、細胞内という微小空間における温度の時空間的変動の定量的記述に加えて、その生理的意義の解明に取り組んでいる。



蛍光性温度センサーの定量
イメージングによる細胞内温度計測的



細胞内温度イメージング
細胞内には不均一な温度分布が存在し　細胞機能と温度が関係している

【代表的な文献】

1. Synergistic effect of ATP for RuvA-RuvB-Holliday junction DNA complex formation. Iwasa T., Han Y.W., Hiramatsu R., Yokota H., Nakao K., Yokokawa R., Ono T. and Harada Y. (2015) *Sci Rep.*, **5**, 18177.
2. Observing the rotational diffusion of nanodiamonds with arbitrary nitrogen vacancy center configurations. Yoshinari, Y., Kalay, Z.and Harada, Y. (2013) *Physical Review B,* **88**, 235206.
3. Single-molecule imaging of the oligomer formation of the nonhexameric Escherichia coli UvrD helicase. Yokota, H., Chujo, Y. A. and Harada, Y.　(2013) *Biophys J.*, **104**, 924-933.
4. Real-time background-free selective imaging of fluorescent nanodiamonds in vivo. Igarashi, R., Yoshinari, Y., Yokota, H., Sugi, T., Sugihara, F., Ikeda, K., Sumiya, H., Tsuji, S., Mori, I., Tochio, H., Harada, Y. and Shirakawa, M. (2012) *Nano Lett.* **12**, 5726-5732.
5. Intracellular temperature mapping with a fluorescent polymeric thermometer and fluorescence lifetime imaging microscopy. Okabe, K., Inada, N., Gota, C., Harada, Y., Funatsu, T. and Uchiyama, S. (2012) *Nat. Commun.,* **3**, 705.
6. Strain through the neck linker ensures processive runs: a DNA-kinesin hybrid nanomachine study. Miyazono, Y., Hayashi, M., Karagiannis, P., Harada, Y. and Tadakuma, H. (2010) *EMBO J.,* **29**, 93-106.
7. Direct observation of DNA rotation during branch migration of Holliday junction DNA by Escherichia coli RuvA-RuvB protein complex. Han, Y. W., Tani, T., Hayashi, M., Hishida, T., Iwasaki, H., Shinagawa, H. and Harada, Y. (2006) *Proc Natl Acad Sci U S A.,* **103**, 11544-11548.
8. Trafficking of a ligand-receptor complex on the growth cones as an essential step for the uptake of nerve growth factor at the distal end of the axon: a single-molecule analysis. Tani, T., Miyamoto, Y., Fujimori, K. E., Taguchi, T., Yanagida, T., Sako, Y. and Harada, Y. (2005) *J. Neurosci.* **25**, 2181-2191.

オルガネラバイオロジー研究グループ

准教授　　　中井　正人　（nakai@protein.osaka-u.ac.jp）

葉緑体に代表される植物オルガネラであるプラスチド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、膜への挿入と光化学系超分子複合体へのアセンブリー過程に注目して研究しています。その詳細な分子メカニズムを、トランスジェニック植物を利用しながら、生化学的手法、分子細胞生物学的手法、および構造生物学的手法を用いて、多面的に解明することを目指しています。また、シアノバクテリアの内共生によりプラスチドが真核細胞内に誕生してから、これらの分子機構をどのように成立・進化させてきたのか、という分子進化学的側面からも研究を進めています。2013 年に、葉緑体内包膜の蛋白質膜透過装置トランスロコンに関して、これまでのモデルを大幅に書き換える論文をサイエンス誌に発表し、世界的にも注目を集めている研究を展開しています。

【研究課題】

1）　葉緑体蛋白質の輸送機構および葉緑体バイオジェネシスの解析

2）　葉緑体バイオジェネシスの分子進化学的解析

【代表的な文献】 1.*Unconvering the Protein Translocon at the Chloroplast Inner Envelope Membrane.　S. Kikuchi, Nakai M, et al. (2013) ***Science*** 339, 571-574.

2. *The TIC complex uncovered: The alternative view on the molecular mechanism of protein translocation across the inner envelope membrane of chloroplasts. Nakai M. (2015) ***Biochim Biophys Acta*** 1847, 957-967.

*YCF1: A Green TIC. Nakai M. (2015) ***Plant Cell*** 27, 1834-1838.

エピジェネティクス研究グループ

准教授　　　末武　勲　（suetake@protein.osaka-u.ac.jp）

真核生物では、DNA の塩基配列に依存しない遺伝（エピジェネティクス）がある。その機構には、DNA の修飾、ヒストン分子の修飾、低分子 RNA、クロマチン構造変化などが関与している。生体では、これら制御にクロストークが見られるため、反応が複雑になっている。そのため、本グループでは、ボトムアップでエピジェネティクス機構について理解しようとしている。なかでも、DNA メチル化の導入・除去、並びにヒストン修飾の認識機構について、主に試験管内での詳細な解析を行っている。

【研究課題】

1）　エピジェネティクス制御機構に関わる分子機構の解明

【代表的な文献】

Nucleosome compaction facilitates HP1γ binding 1 to methylated H3K9. Mishima Y, Jayasinghe CD, Lu K, OtaniJ, Shirakawa M, Kawakami T, Kimura H, Hojo H, Carlton P, Tajima S, Suetake I*. (2015) Nucleosome compaction facilitates HP1γ binding 1 to methylated H3K9. *Nucl. Acids Res.* **43**,10200-12

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（gtyj8126@protein.osaka-u.ac.jp）
講　師　　李　映昊
助　教　　宗　正智

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。

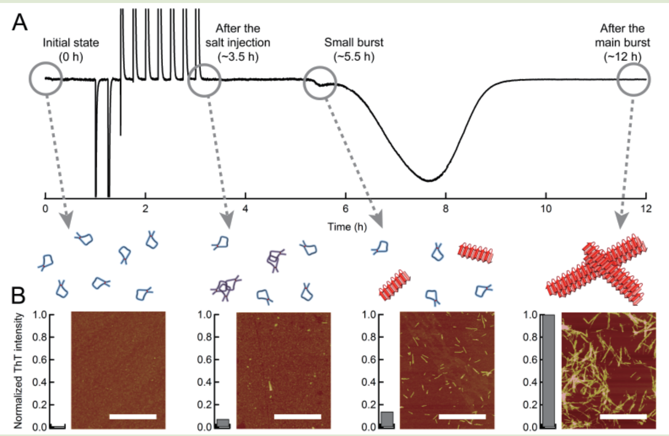
【研究課題】

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フォールディングとミスフォールディングの総合的理解

【研究トピックス】

① アミロイド線維形成の熱測定研究

熱測定は蛋白質の構造安定性を研究する重要な手段である。しかし、これまで蛋白質凝集は熱測定の研究対象ではなかった。等温滴定型熱量計を用いることによってアミロイド線維の形成に伴う熱量を測定することができるようになった[1]。これを発展させ、アミロイド線維形成の熱力学的機構を明らかにするとともに、フォールディングとミスフォールディングを包括する蛋白質の熱力学を確立することを目指している。



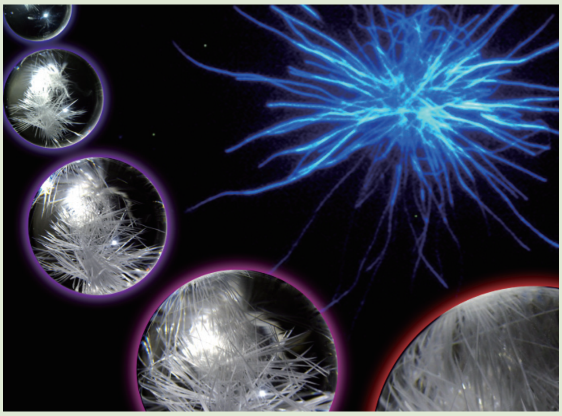
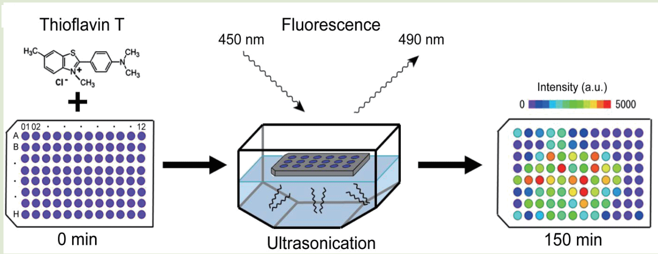


図１：（左）等温滴定型熱量計によるβ２ミクログロブリンのアミロイド線維の熱測定。（右）アミロイド線維形成と酢酸ナトリウムの結晶化は類似した反応であり、共に発熱を伴う。

②　超音波によるアミロイド線維形成反応の促進

超音波照射が原因蛋白質の過飽和状態を解消して、アミロイド線維形成を促進することを明らかにしてきた。超音波とプレートリーダーを組み合わせて、アミロイド線維形成を強制的に誘導する装置 Handai Amyloid Burst Inducer (HANABI)を研究開発した。これを用いて、アミロイド線維形成を促進する物質や抑制する物質のスクリーニング、さらには作用機構の解明を目指している[2]。



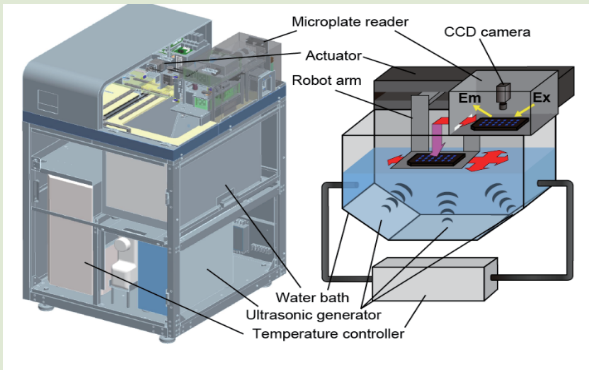
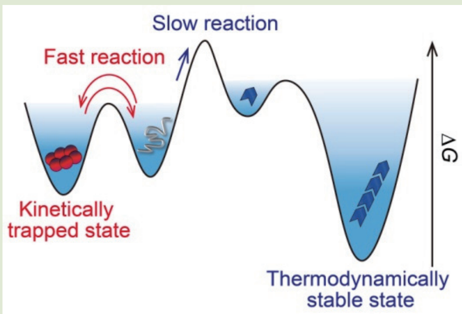


図2：(左)HANABI の原理。(右)HANABI の構成図。

③　アミロイド線維と不定形凝集の統合的理解

アミロイド線維とアモルファスは、結晶とガラスの関係にある。アミロイド線維とアモルファス凝集の分配は両者の競争によって起きることを提唱した[3-5]。これらの競争を考える上で、結晶成長の基本原理である、「オストワルトの段階則」が重要である。蛋白質の溶解度や過飽和、オストワルトの段階則を考慮することにより、蛋白質凝集の理解の大きな進展が期待できる。



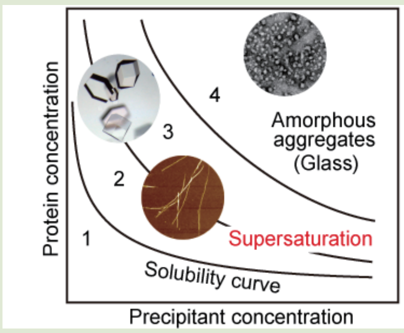


図3：(左)アモルファス凝集とアミロイド線維の競争的形成のエネルギー図。(中)アミロイド線維と結晶の類似性の相図。(右)アミロイド線維形成の新たな視点：溶解度と過飽和がもたらす結晶性の析出。

【代表的な文献】

1. 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.* **111**, 6654-6659.
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.
3. Supersaturation-limited and unlimited phase transitions compete to produce the pathway complexity in amyloid fibrillation. Adachi M, So M, Sakurai K, Kardos J, Goto Y. (2015) *J. Biol. Chem.* **290**, 18134-18145.
4. Distinguishing crystal-like amyloid fibrils and glass-like amorphous aggregates from their kinetics of formation. Yoshimura Y, Lin Y, Yagi H, Lee Y-H, Kitayama H, Sakurai K, So M, Ogi H, Naiki H, Goto Y (2012) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **109**, 14446-11451.
5. Revisiting supersaturation as a factor determining amyloid fibrillation. So M, Hall D, Goto Y (2016) *Curr. Opin. Struct. Biol.* **36**, 32-39.

機能構造計測学研究室

教　授　　藤原　敏道　(tfjwr@protein.osaka-u.ac.jp)
助　教　　松木 陽

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。

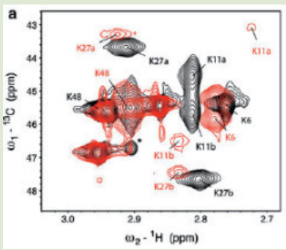
【研究課題】

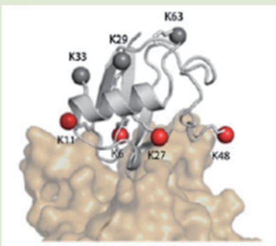
1）NMRに基づく蛋白質の構造，相互作用，機能の解析
2）テラヘルツ波を用いたNMRの超高感度化
3）生体系解析のための NMR 実験法，同位体標識試料調製法，データ解析法の開発

【研究トピックス】

NMR分光法の高い分解能を生かして，溶液状態や生体膜などにある蛋白質構造･機能を解明するためには，(1)試料調製，(2)NMR実験，(3)スペクトル解析の各段階で進んだ方法を開発する必要がある。

(1)NMR では弱い蛋白質･低分子間相互作用や蛋白質間相互作用を原子分解能で容易にモニターすることができる。この利点を，NMR全構造解析や生産が困難な蛋白質に適用するために，蛋白質発現後の高感度NMRプローブの修飾，効率的なアミノ酸選択同位体標識，さらに基質低分子への敏感なプローブである 19F の導入などを行っている。



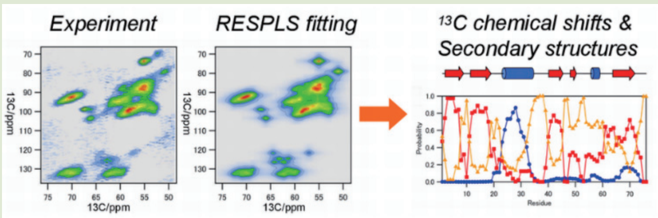


^{1}H-^{13}C HSQCスペクトルとNMRが示す互作用するユビキチン-蛋白質YUH1。ユビキチンとYUH1はそれぞれリボンと表面表示で示した（1CMX)。ユビキチンの蛋白質発現後標識したメチル基をボールで示し，大きな化学シフト摂動があるものを赤で表示した。この方法で蛋白質試料調製が困難な蛋白質でもNMRで相互作用解析ができるようにした。（文献）

（2）NMR で使う核スピンに比べて電子スピンはその磁気的エネルギーは 1000 倍大きい。このことを利用して固体 NMR の感度を 1 万倍まで向上させようとするのが，極低温高磁場 DNP-NMR 法である。この革新的な NMR 装置の共同開発と応用を蛋白研施設で行っている。

700 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 460GHz ジャイロトロン。試料は循環ヘリウムガスで効率的に 30K まで冷却できる。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）10 万件を越える蛋白質立体構造や関連する NMR データがデータバンク PDB 等には登録され，分子動力学や量子化学により構造と NMR パラメータを容易に算出できるようになってきた。これらを NMR 解析に利用して効率的に蛋白質構造と機能の解析を行っている。



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）

【代表的な文献】

1. Structure determination of uniformly ^{13}C,^{15}N labeled protein using qualitative distance restraints from MAS solid-state ^{13}C-NMR observed paramagnetic relaxation enhancement, Tamaki M., Egawa, A.,Kido, K., Kameda, T., Kamiya, M., Kikukawa, T., Aizawa, T., Fujiwara, T., and Demura, M. (2016) *J. Biomol. NMR*, **64**, 87-101.
2. Closed-cycle cold helium magic-angle spinning for sensitivity-enhanced multi-dimensional solid-state NMR, Matsuki, Y., Nakamura, S., Fukui, S., Suematsu, H., and Fujiwara, T. (2015) *J. Magn. Reson.,* **259**, 76-81.
3. 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., and Kojima, C. (2015) *J. Biomol. NMR,* **61**, 55-64.
4. Kosami, K., Ohki, I., Nagano, M., Furuita, K., Sugiki, T., Kawano, Y., Kawasaki, T., Fujiwara, T., Nakagawa, A., Shimamoto, K., and Kojima, C. The crystal structure of the plant small GTPase OsRac1 reveals its mode of binding to NADPH oxidase, (2014) *J. Biol. Chem.,* **289**, 28569-78.
5. Utilization of lysine 13C-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.
6. 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.

蛋白質結晶学研究室

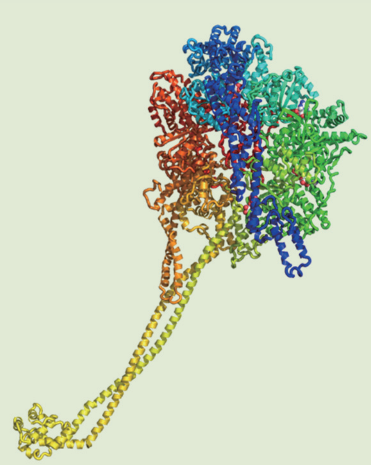
教　授　　栗栖　源嗣（gkurisu@protein.osaka-u.ac.jp）
准教授　　田中　秀明

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、機能している蛋白質を蛋白質結晶学の手法で結晶化し、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。(1)光合成のエネルギー変換膜に存在する光合成反応中心，光化学系 I 複合体，シトクロム b_6f 複合体をコアに，分子間相互作用や反応制御機構に着目して研究しています。(2)細胞骨格系分子モーターのうち，最も分子サイズの大きなダイニンの運動メカニズム解明に取り組んでいます。ダイニンの結晶構造をベースに，分子動力学計算やCDスペクトル・NMRスペクトル解析を併用することで，ダイニン分子の運動機構に迫ります。(3)FeS クラスターなどの金属中心をもつ金属酵素は，高輝度放射光による放射線損傷により容易に還元され，精密な構造解析を行うことが困難です。我々はX線自由電子レーザーや中性子をプローブに用いることで，放射線損傷のない高精度・高分解能構造を決定することを目指しています．

【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）金属蛋白質の無損傷・高分解能構造解析

【研究トピックス】



私たちの体を構成する細胞内では，分子モーターとよばれるタンパク質群が化学エネルギーを力学的運動へと変換することで，生命活動に必要な様々な細胞運動を駆動しています．それらの中で，細胞内物質輸送や繊毛・鞭毛運動を担う『ダイニン』は，分子としての複雑さと分子サイズの巨大さゆえに，主要な分子モーターの中で唯一，全体の立体構造が明らかではなく，その運動機構は謎に包まれていました．図 1 は，我々のグループが明らかにした細胞質ダイニンの立体構造です。ダイニンは，ATP を加水分解するリングから長い脚（黄色と橙色）が突き出した構造をもつことが明らかになり，ダイニンがこの脚を構造変化させながら微小管の上を移動することを示唆する結果を得ました．また，力発生を担うレバーアーム様の構造（青色）がリングを跨ぐように位置することも可視化され，ダイニンが ATP 加水分解で得られた化学エネルギーを力学的運動に変換する仕組みについて、原子レベルの構造的知見が得られました．

図1. ADP 結合状態のダイニンモータードメインの構造
力発生を担うリンカー（青）、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。

光合成反応は、地球上の全ての生命体を支える重要な反応です。植物や藻類は、生育地での光環境の変化にあわせて光合成機能を最適化させ、有害な酸素化合物による酸化ストレスを減らす対策を個別に発達させてきました。しかし、生育環境の多様性に対応してその仕組みは複雑で多岐にわたり、全容は解明されていません。カルシウムは光合成の酸素発生過程における必須の元素で、強光適応に重要な役割を果たすことが分かっています。我々の研究結果から、カルシウム結合蛋白質『カルレドキシン』が、葉緑体内でカルシウムイオンの濃度に依存して抗酸化反応を進め、光合成の効率を調整していることが判りました。構造解析と機能解析から、カルシウムイオンを結合した時だけ活性を示す構造的な理由を突き止めました（図2）。

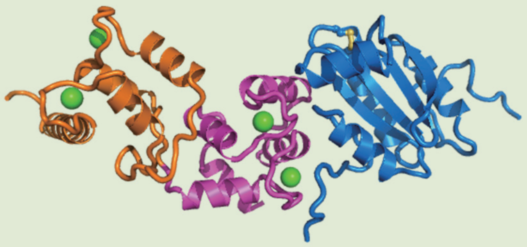
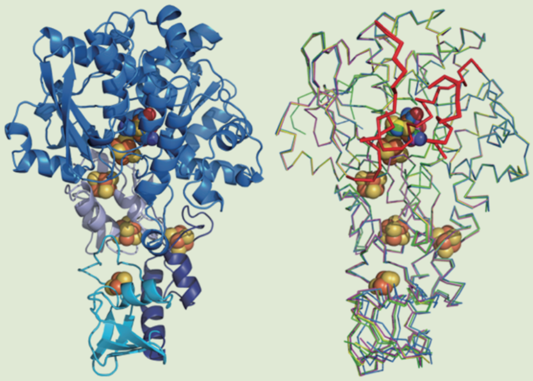


図2. 緑藻クラミドモナスがもつカルレドキシンの Ca^{2+}結合型結晶構造。カルシウム結合ドメインをオレンジ色（前半）と紫色（後半）で示し、結合している Ca^{2+}イオンは緑色の球で表示している。C 末端側にある酸化還元ドメインは青色のリボンモデルで表示し、酸化還元中心を形成するジスルフィド結合を stick モデルで表示している。



光合成生物内で起こるレドックス代謝反応の多くは，酸化還元中心として金属クラスターをもつ植物型フェレドキシン（Fd）に依存する。我々は，Fd 依存性の緑藻型[FeFe]ヒドロゲナーゼを応用したモデル細胞の創出を最終目標に，Fd と Fd 依存酵素の構造研究・相互作用解析に取り組んでいる。我々のグループで改良した金属中心再構成法を適用し、X 線と中性子とを効果的に併用することで，原理的に不可能と考えられてきた「酸化型」と「還元型」による活性型複合体の精密構造解析を目指しています。

図3. 金属中心を再構成した[FeFe]ヒドロゲナーゼの結晶構造。金属中心の再構成で重要とされているループ構造を赤色のチューブモデルで表示している。

【代表的な文献】

1. A structural view of synthetic cofactor integration into [FeFe]-hydrogenases. Esselborn, J., Muraki, N., Klein, K., Engelbrecht, V., Metzler-Nolte, N., Apfel, U.-P, Hofmann, E., Kurisu G. and Happe, T. (2016) *Chem. Sci.*, **7**, 959-968
2. Structures of cyanobacteriochromes from phototaxis regulators AnPixJ and TePixJ reveal general and specific photoconversion mechanism. Narikawa, R., Ishizuka, T., Muraki,N., Shiba, T., Kurisu G. and Ikeuchi, M. (2013) *PNAS*, **110**, 918-923
3. The 2.8 Å crystal structure of the dynein motor domain. Kon, T., Oyama, T., Shimo-Kon, R., Imamula, K., Shima, T., Sutoh, K. and Kurisu, G. (2012) *Nature,* **484**, 345-350
4. X-ray strucrture of a functional full-length dynein motor domain. Kon,T., Sutoh, K. and Kurisu, G. (2011) *Nature Struct. Mol. Biol.*, **18**, 638-642
5. X-ray crystal structure of the light-independent protochlorophyllide reductase. Muraki, N., Nomata, J., Ebata, E., Mizoguchi, T., Shiba,T., Tamiaki, H., Kurisu, G. and Fujita, Y. (2010) *Nature*, **465**, 110-116.
6. The Structure of Rat Liver Vault at 3.5 Angstrom Resolution. Tanaka, H., Kato, K., Yamashita, E., Sumizawa, T. Zhou, Y., Yao, M., Iwasaki, K., Yoshimura, M. and Tsukihara, T. (2009) *Science*, **323**, 384-388.
7. Structure of the Cytochrome b6f complex of Oxygenic Photosynthesis: Tuning the cavity. Kurisu, G., Zhang, H., Smith, J. L. and Cramer, W. A. (2003) *Science* **302**, 1009-1014.
8. Structure of the electron transfer complex between ferredoxin and ferredoxin-NADP(+) reductase. Kurisu, G., Kusunoki, M., Katoh, E., Yamazaki, T., Teshima, K., Onda, Y., Kimata-Ariga, Y. and Hase, T. (2001) *Nature Struct. Biol.,* **8**, 117-121.

膜蛋白質化学研究室

准教授　　　三間 穣治　（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、SNARE ファミリータンパク質群や Rab GTPase ファミリータンパク質群が中心的な因子として働く過程であり、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の膜動態反応である、「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。

【研究課題】

1）SNARE、SNARE シャペロン、Rab より駆動される膜テザリング・膜融合反応マシナリーの研究

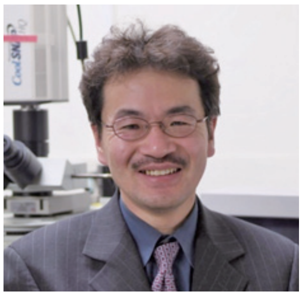
2）SNARE、SNARE シャペロン、Rab により制御される膜テザリング・膜融合の細胞内場所特異性・選択性を決定する分子機構の研究

【代表的な文献】

1. Physiological lipid composition is vital for homotypic ER membrane fusion mediated by the dynamin-related GTPase Sey1p. Sugiura S, Mima J (2016) *Sci Rep* **6,** 20407.
2. Membrane-anchored human Rab GTPases directly mediate membrane tethering in vitro. Tamura N, Mima J (2014) *Biol Open* **3,** 1108-1115.
3. Multiple and distinct strategies of yeast SNAREs to confer the specificity of membrane fusion. Furukawa N, Mima J (2014) *Sci Rep* **4,** 4277.
4. 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.
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

ゲノム一染色体機能研究室



教　授　　篠原　彰（ashino@protein.osaka-u.ac.jp）
准教授　　篠原　美紀

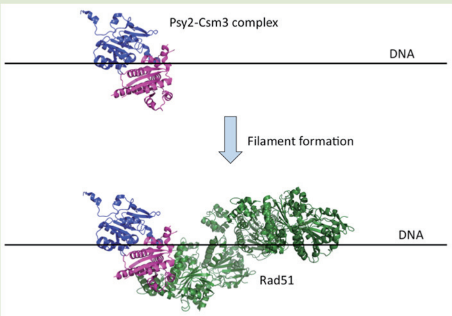
本研究グループは、蛋白質高次機能研究を分子レベルで“見る”、特に細胞・個体内での機能を理解することを主眼に、ゲノムの安定化のメカニズムと、その破綻によって生じるゲノム不安定化の病態に関する研究を推進している。中でも真核生物における DNA 交換反応である組換え、相同組換えと非相同末端結合のメカニズムをコアとして、組換えの細胞周期での時期特異的制御、配偶子形成時に生まれる特殊性、染色体構造体や運動による制御に近年焦点を当てている。分子生物学的手法を中心に、生化学、細胞生物学、構造生物学、ゲノムワイド解析など分野横断的な統合的な研究を展開している。ゲノムの安定化に関してはヒト細胞を用いた細胞レベルの解析に加えて、マウスを使った個体レベルでの視点も取り入れ始めている。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タンパク質の機能、構造の研究
2）　減数分裂期特異的染色体構造形態形成、運動、核膜リモデリングと組換えの連携の研究
3）　ヒストン修飾（エピジェネティクス）やテロメアによる組換えの制御研究
4）　ヒト細胞の細胞周期による DNA２重鎖切断修復経路の選択機構の研究
5）　ヒト細胞、マウス個体を用いた組換えと修復反応の研究

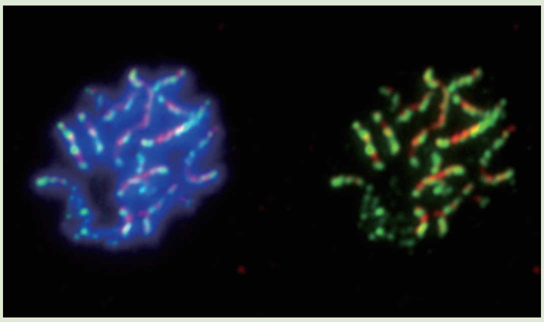
【研究トピックス】

相同組換えの中でも鍵反応である、DNA 間の相同性を探す反応は一本鎖 DNA 上にタンパク質複合体が動的に集合解離反応を繰り返すことで担われている。この中心となるのが RecA ホモログ Rad51 による一本鎖 DNA 上での右巻きの螺旋フィラメント構造体の形成である。この Rad51 フィラメントは様々な正、負の因子によって制御される動的な構造体である。特に、この反応は家族性乳がんの原因となる Brca2 や Rad51 パラログによって促進されることが知られていることがわかっているが、その分子メカニズムは不明であった。これまで真核生物で初めて Rad51 が RecA ホモログであることを同定してから、Rad51 のかかわる反応に関して仕組みの解明を行ってきて、最近、Rad51 パラログの新しい複合体(PCSS; Psy3-Csm2-Shu1-Shu2)を同定し、その構造を決定して、この複合体が Rad51 フィラメント形成末端に結合することで、フィラメントの形成、安定化を図る新しいモデルを提唱した（文献 6）。



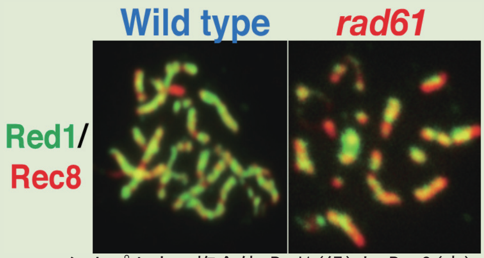
組換えのモデル

減数分裂期はシナプトネマ複合体のような染色体形態形成、テロメアクラスタリングによる染色体運動などが起き、染色体上の DNA 反応を厳密に制御すると考えられている。一方で、シナプトネマ複合体の微細構造や染色体運動の原動力である核膜複合体の実態はわかっていない。これまで減数分裂期の染色体運動に関わる因子などを同定してきた。近年、染色体構成要素コヒーシン複合体の因子に注目し、その解析を進めている。コヒーシンの制御が染色体の軸の圧縮度を決めていることや核膜タンパク質が染色体運動に大切な機能に関わることを明らかにしている（文献 4, 9）。



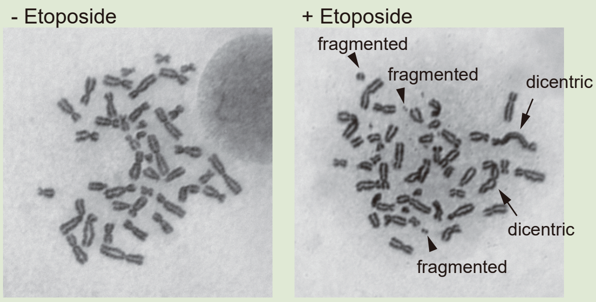
シナプトネマ複合体 Zip1（緑）と Rec8（赤）の間接蛍光抗体像

減数分裂期組換えは減数第１分裂の相同染色体の分配に必須の役割を果たすため、体細胞分裂期の組換えと異なり、姉妹染色体より相同染色体で、非交差型組換えより交差型組換え体が、その染色体上での数と分布が厳密に制御されるという特徴を持つ。それぞれに特異性にタンパク質複合体が関わることが知られているが、加えて染色体構造やダイナミックスがその制御に重要な役割を果たすことが知られている。当研究室では減数分裂期組換えを制御する因子を多数同定してきた。最近では DNA 損傷チェックポイントに関わる因子が交差型組換えに大切な役割を果たす因子の局在に関わることを見出した（文献 2）。



シナプトネマ複合体 Red1（緑）と Rec8（赤）の間接蛍光抗体像

細胞ががん化する原因には様々あり、そのひとつとして物理的に遺伝情報源であるゲノム DNA が傷つき、それが元になりゲノム不安定化、つまり変異や転座・欠失などにより遺伝情報が壊れてしまうことが考えられている。電離放射線や特定の化学物質をはじめ、私たちが生きていくために欠かせない太陽光や酸素までが遺伝情報を壊す原因となることが知られている。しかし、通常、細胞は壊れる前に傷を治す手段、つまり DNA 損傷修復機構を持っている。実はどのようなメカニズムで細胞のがん化に繋がるゲノム不安定化が引き起こされるのか？詳しいことは分かっていない。私たちは、ヒトの細胞を用いて主に電離放射線による DNA 損傷からゲノム不安定化が引き起こされる仕組みについて、高発がん性遺伝病患者由来細胞と遺伝子編集技術による変異導入ヒト培養細胞株とモデル酵母を用いてその分子メカニズム解明を行っている。これまでヒトの高発がん性遺伝病の原因変異を再現した酵母変異株では DNA 損傷修復が間違いだらけのまま傷だけを塞いでしまうこと、そしてその原因として、場違いで不必要な修復タンパク質を傷から除去できないことを明らかにした（文献 1, 5）。



Terasawa M. et al, ***Cancer Sci***. 2014 より引用

細胞分裂時の DNA 損傷によって壊れてしまったヒトのゲノム染色体　（左）通常の細胞分裂後の染色体、（右）細胞分裂時に DNA 損傷を入れると急性のゲノム不安定化がおこる（文献５）。

【代表的な文献】

1. The MRX Complex Ensures NHEJ Fidelity through Multiple Pathways Including Xrs2-FHA-Dependent Tel1 Activation. Iwasaki, D., Hayashihara, K., Shima, H., Terasawa, M., Higashide, M., Susan, G., and Shinohara, M. (2016) *PLoS Genetics*, **18**, e1005942.
2. Rad61/Wpl1 (Wapl), a cohesin regulator, controls chromosome compaction during meiosis. (2016) *Nucleic Acids Research*, **44**, 3190-3203.
3. The Paf1 Complex Shapes the Landscape of Double-strand Breaks along Meiotic Chromosomes in *Saccharomyces cerevisiae.* Santosh, G. K., Patel, K.J., Colletti M.M., Sasanuma, H., Shinohara, M., Hochwagen, A., and A. Shinohara. Genetics, 202, 497-512, 2016
4. 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.
5. 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.
6. 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 Commun.* **4**, 1676-1688.
7. The Mps3 SUN domain is important for chromosome motion and juxtaposition of homologous chromosomes during meiosis. Rao, H.B.D.P., Shinohara M. and A.Shinohara Genes-to-Cells. 16. 1081-1096, 2011
8. *Saccharomyces cerevisiae* Srs2 helicase disassembles Rad51 from meiotic chromosomes. Sasanuma, H., Furihata Y., Shinohara, M. and Shinohara, A. (2013) *Genetics*, 194, 859-872.
9. 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.
10. 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.

分子発生学研究室

教　授　　古川　貴久（takahisa.furukawa@protein.osaka-u.ac.jp）
准教授　　大森　義裕
助教　　　茶屋　太郎

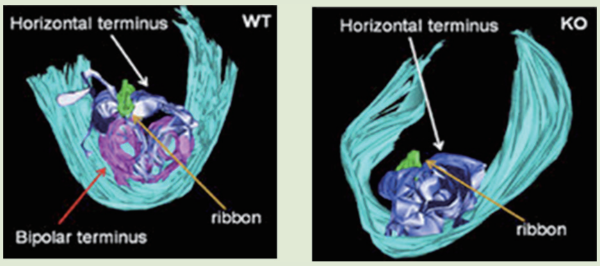
本研究室は、脊椎動物、特にほ乳類の中枢神経系発生の分子機構を分子生物学、生物工学、生化学、細胞生物学、神経生理学など幅広い方法論により解明し、神経系の構築と機能発現の原理を生体(in vivo)レベルで解明することを目指しています。私たちの脳には一千億個を超える神経細胞が存在していますが、神経系では多様な細胞が正確に発生・分化するだけではなく、それらが正しく結合して回路を作らねばなりません。私たちのゲノム DNA に書かれた遺伝プログラムが、いかにして RNA や蛋白質として機能発現することによって神経細胞を正確に作り、正しい相手と結合して精密な神経回路を形成し、最終的に生体において神経生理機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）網膜シナプス形成の分子機構
2）マイクロ RNA（miRNA）による中枢神経系の制御メカニズム
3）網膜 ON・OFF 神経回路の機能メカニズム
4）神経細胞分化に関わる遺伝子発現制御機構
5）神経系における細胞のアンテナ”繊毛”の発生機構と機能

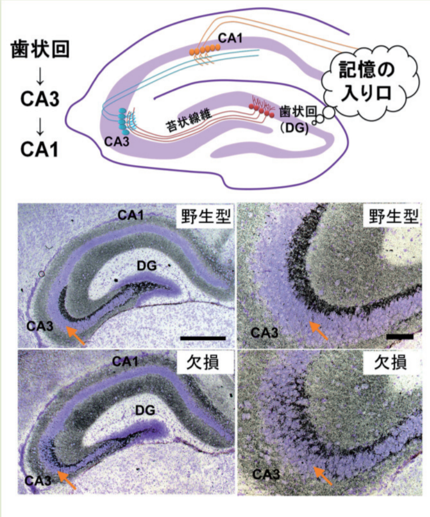
【研究トピックス】

近年、網膜は外界からの光情報を電気信号に変換し脳に伝達するだけでなく、網膜で複雑な情報処理も行っていることが明らかにされつつある。網膜の神経細胞は大きく5種類に分類されるが、サブタイプを含めると約60種類存在する。それぞれのサブタイプが正しい相手とシナプス結合し回路を築くことで、神経回路として機能する。特定の網膜神経細胞は、どのような分子メカニズムで決まった場所で正しい相手でシナプスを作るのであろうか？私たちは網膜から細胞外マトリックスたんぱく質ピカチュリン(Pikachurin)を同定し、ピカチュリンが網膜視細胞と2次ニューロンである双極細胞の間の正常なシナプス距離形成に必須であることを見出した。さらに筋ジストロフィーの原因蛋白質のジストログリカンとピカチュリンが相互作用することによって、視細胞軸索終末と双極細胞樹状突起終末間の微小形態形成が行われ特異的シナプスが形成されるメカニズムを提唱した。本研究により、シナプス結合の正しい距離の形成メカニズムとその意義、およびこれまで謎であった筋ジストロフィー患者の網膜生理機能異常の発生メカニズムが解明された（文献 7）。



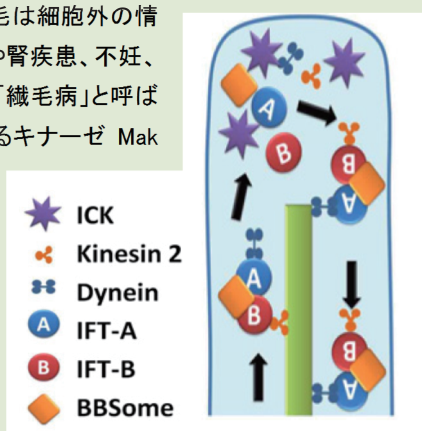
図：超高圧電子顕微鏡による三次元トモグラフィー解析
（大阪大学超高圧電子顕微鏡センターとの共同研究）
WT(野生型)の網膜視細胞の軸索末端には水平細胞（紫）と双極細胞（赤）の神経終末が進入してシナプスを形成しているが、ピカチュリン KO 網膜のリボンシナプスには双極細胞の神経終末が進入していない。

マイクロ RNA と呼ばれる 21 塩基前後の小さな RNA が、たんぱく質発現の抑制を通じて様々な生命現象やヒト疾患の発症に関わっていることが知られている。脳には数多くのマイクロ RNA が発現していることが知られているが、それぞれのマイクロ RNA が生体脳においてどのような機能を有しているかはほとんど未解明であった。私たちは網膜や脳に高発現する中枢神経系特異的なマイクロ RNA-124a を同定し、そのノックアウトマウスの解析から、miR-124a が記憶の入り口として知られる海馬歯状回の神経細胞の正しい神経投射に必須であることを見出した。これは哺乳類の脳において発現する特定のマイクロ RNA の機能がノックアウトマウスを用いて解明された最初の例となった（文献 4）。



図：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。

脊椎動物の細胞には繊毛と呼ばれる微小管を軸とした「アンテナ」が存在する。繊毛は細胞外の情報をキャッチするセンサーとして働いている。ヒトにおける繊毛の異常は、視覚障害や腎疾患、不妊、多指症や肥満を含む様々な難治性疾患を引き起こすことが知られており、これらは「繊毛病」と呼ばれ診断法や治療法の開発が望まれている。私たちは、網膜視細胞の繊毛に局在するキナーゼ Mak が視細胞の生存と繊毛の長さ制御に重要であることを見出した（文献 5）。また、ノックアウトマウスやゼブラフィッシュを用いた解析から Mak のパラログである ICK が繊毛の先端部で蛋白質輸送(IFT)を制御していることを明らかにした(文献 2)。



図：ICK による繊毛先端部における IFT の方向転換制御
繊毛の先端部において ICK は IFT をリン酸化することにより
IFT 複合体 A と複合体 B の解離を促進していると考えられる。

【代表的な文献】

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.
2. 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. Neurosci.* **2**, 6126-6137.
4. miR-124a is required for hippocampal axogenesis and retinal cone survival through Lhx2 suppression. Sanuki R et al. (2011) *Nature Neurosci*. **14**, 1125-1134.
5. Negative regulation of ciliary length by ciliary male germ cell-associated kinase (Mak) is required for retinal photoreceptor survival. Omori Y et al. (2010) *PNAS* **107**, 22671-22676.
6. Blimp1 suppresses Chx10 expression in differentiating retinal photoreceptor precursors to ensure proper photoreceptor development. Katoh K et al. (2010) *J. Neurosci*. **12**, 6515-6526.
7. Pikachurin, a dystroglycan ligand, is essential for photoreceptor ribbon synapse formation. Sato S et al. (2008) *Nature Neurosci.* **11,** 923-931.

細胞核ネットワーク研究室

独立准教授　加納 純子（jkanoh@protein.osaka-u.ac.jp）

遺伝情報を担うDNAは、ヒストンなどの様々な物質と相互作用することによって染色体と呼ばれる構造体を形成している。真核生物は線状の染色体を持ち、その最末端にはテロメアと呼ばれるドメインが存在する。テロメアは、特殊な繰り返し配列からなるDNAと、それを基に集合する様々なタンパク質から構成される。テロメアは、染色体構造維持、細胞寿命制御、生殖細胞の永続的維持など、生命にとって非常に重要な役割を果たしていることが明らかにされつつある。私たちは、テロメアの新規機能を発見すべく、分裂酵母のテロメア結合タンパク質複合体の中心であるRap1タンパク質に焦点を当てて研究を行っている。

一方、テロメアに隣接してサブテロメアと呼ばれるドメインが存在する。サブテロメアは、テロメアの繰り返し配列を含まないが、サブテロメア間で非常に高い相同性をもつDNA領域を含む。しかし、サブテロメアの生理学的機能については、まだあまり明らかにされていない。これまでに私たちは、分裂酵母のサブテロメアの相同配列領域を中心としてヒストンH3-K9メチル化を介したヘテロクロマチン構造が形成されること、サブテロメアの相同配列以外の領域ではシュゴシンタンパク質Sgo2が局在してknobと呼ばれる高度に凝縮したクロマチン構造を形成し、その領域の転写抑制およびDNA複製タイミング維持に寄与していることを明らかにしてきた。今後は、分裂酵母やヒト細胞におけるサブテロメア領域のDNAやクロマチン構造の生理学的意義を明らかにしていくとともに、ヒトと類人猿のサブテロメア構造の大きな違いが進化にどのように影響したのか探っていきたい。

【研究課題】

1） テロメア結合タンパク質の新規機能や複合体形成メカニズムの解明
2） サブテロメアの相同DNA配列領域や高次クロマチン構造の機能解明
3） ヒトと類人猿におけるサブテロメア構造と進化との関係解明

【代表的な文献】

1. Shugoshin forms a specialized chromatin domain at subtelomeres that regulates transcription and replication timing. Tashiro S, Handa T, Matsuda A, Ban T, Takigawa T, Miyasato K, Ishii K, Kugou K, Ohta K, Hiraoka Y, Masukata H, Kanoh J (2016) *Nature Commun*. **7**: 10393.
2. Fission yeast telomere-binding protein Taz1 is a functional but not a structural counterpart of human TRF1 and TRF2. Deng W, Wu J, Wang F, Kanoh J, Dehe PM, Inoue H, Chen J, Lei M (2015) *Cell Res*. **25**: 881-884.
3. Identification of the functional domains of the telomere protein Rap1 in *Schizosaccharomyces pombe*. Fujita I, Tanaka K, Kanoh J (2012) *PLoS ONE* **7**: e49151.
4. Telomere-nuclear envelope dissociation promoted by Rap1 phosphorylation ensures faithful chromosome segregation. Fujita I, Nishihara Y, Tanaka K, Tsujii H, Chikashige Y, Watanabe Y, Saito M, Ishikawa F, Hiraoka Y, Kanoh J (2012) *Curr. Biol*. **22**: 1932-1937.
5. A conserved motif within RAP1 plays diversified roles in telomere protection and regulation in different organisms. Chen Y, Rai R, Zhou Z-R, Kanoh J, Ribeyre C, Yang Y, Zheng H, Damay P, Wang F, Tsujii H, Hiraoka Y, Shore D, Hu H-Y, Chang S, Lei M (2011) *Nature Struc. Mol. Biol*. **18**: 213-221.

体内環境統合蛋白質研究グループ

准教授　　　奥村　宣明　（nokumura@protein.osaka-u.ac.jp）

本研究グループは、哺乳動物の蛋白質代謝、ペプチドの代謝とその調節機構の研究を行っている。特に、カルノシンを含む種々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、それを通じてジペプチドの生理的な役割、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いる。最近では、CN2 の非共有結合複合体をネイティブマススペクトロメトリーにより解析し、酵素反応の詳細な解析を行っている。またこれらと並行して、プロテオミクスの方法論の開発を行い、生体内でのタンパク質分解の解析とともに、バイオマーカー探索等への応用を行っている。

【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）プロテオミクスによる生体内でのタンパク質分解の解析

【代表的な文献】

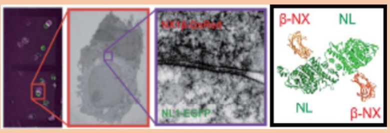
1. Evidence for an essential role of intradimer interaction in catalytic function of carnosine dipeptidase II using electrospray-ionization mass spectrometry. Okumura N, Tamura J, Takao T. (2016), *Protein Sci*, **25**, 511-522.
2. Carnosine dipeptidase II. Okumura N. (2013) in *Handbook of proteolytic enzymes, 3rd ed.*, pp. 1596-1600, Elsevier.
3. Diversity in protein profiles of individual calcium oxalate kidney stones. Okumura N, et al. (2013) *PLos One* **8**, e68624.
4. Structural Basis for Substrate Recognition and Hydrolysis by Mouse Carnosinase CN2. Unno. et. al. (2008) *J. Biol. Chem.* **283**, 27289-27299.

多階層蛋白質統合研究部門

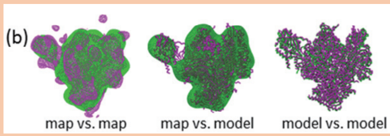
多階層構造生命科学研究室

高木　淳一（教授）、Damien Hall（准教授）、岩崎　憲治（准教授）、川端　猛（准教授）

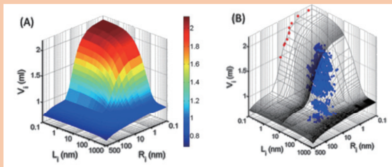
マルチスケール構造生命科学とは、原子分解能による分子構造から、その集合体としての細胞内生体内装置、さらには細胞から生命個体に至る各階層の構造の統合化により、高次な生命機能を解明する生命科学の新たな学問を意味する。本研究室では、実験および計算機シミュレーション、モデリングなどの様々なアプローチ法を組み合わせ、マルチスケールの構造生命科学研究を実施する。特にクライオ電子顕微鏡を駆使して、細胞レベルと原子レベルの構造情報を接続する。



光—電子線相関構造解析



コンピューターによる原子モデルの電子密度マップへの最適なフィッティング



Theoretical and experimental modeling of amyloid migration

【研究課題】 1）統合的アプローチによる生体内分子構造の可視化
2）クライオ電子顕微鏡と計算機科学の融合による近原子分解能構造解析
3）実験とシミュレーションを併用したアミロイド形成のダイナミクス解析

【代表的な文献】

1. Suzuki H, Kawabata T, Nakamura H. (2016) Omokage search: shape similarity search service for biomolecular structures in both the PDB and EMDB. *Bioinformatics*. **32**(4):619-20.
2. Miyazaki, N. et al (2016) Electron microscopic imaging revealed the flexible filamentous structure of the cell attachment protein P2 of Rice dwarf virus located around the icosahedral fivefold axes. *Journal of Bacteriology* **159**, 181-90.
3. 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.

客員 PI 研究室

招へい教授　　山崎　俊夫（toshio.yamazaki@riken.jp）

2つの極端な状態にあるタンパク質測定の NMR 測定法を研究している。1つめの状態は強制的に構造変化を起こされている系で溶液NMRを測定する。光異性化分子を目的タンパク質につけ、光に同期して、NMRを測定することで準安定状態の測定が可能になる。我々はタンパク質のフォールディング過程の準安定状態の原子毎の測定を可能にした。もう1つの条件はタンパク質が脂質2重膜にとらえられている状態を固体 NMR で測定することである。主鎖信号の帰属を妨げる信号混雑を、高磁場と試料の選択的同位体標識で乗り越える方向で研究を進めている。

【研究課題】 1）光同期 NMR によるタンパク質の構造変化の研究
2）固体 NMR によるタンパク質の凝集状態の研究
3）ノンコーディング RNA の NMR 研究

【代表的な文献】

Nagashima, Toshio; Ueda, Keisuke; Nishimura, Chiaki; Yamazaki, Toshio, Anal. Chem. 87, p11544-52 (2015)
Kenjiro Hashi, Kenzo Deguchi, Toshio Yamazaki, ..., and Tadashi Shimizu, Chemistry Letters 45, p209-210 (2016)

客員 PI 研究室

招へい教授　　　月原　冨武（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を変えて、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】　ミトコンドリアの構造生命科学

1）　チトクロム酸化酵素の精密、動的 X 線結晶構造解析

2）　呼吸鎖超複合体の構造研究

【代表的な文献】

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. Determination of damage-free crystal structure of an X-ray-sensitive protein using an XFEL. Hirata et al. (2014) Nat Methods. 11, 734-736.
3. Purification of active respiratory supercomplex from bovine heart mitochondria enables functional studies. Shinzawa-Itoh et al., (2016) J Biol Chem., 291, 4178-4184.

客員 PI 研究室

招へい教授　　　内藤　晶（naito@ynu.ac.jp）

古細菌由来の光受容膜タンパク質は物質の輸送や信号伝達に重要な役割をはたしている。中でも発色団としてレチナールを有するレチナール蛋白質は、レチナールの光異性化によって光励起中間体を生じ、タンパク質の構造や運動性に変化を与える過程を経て、光受容体として物質輸送や信号伝達の機能を発現する。本研究では、光駆動型プロトンポンプ活性を有するバクテリオロドプシン(bR)、負の光走性の信号を伝達するフォボロドプシン(ppR あるいは SR II)とトランスデューサー(pHtrII)複合体を研究対象とし、光照射によって生じる光励起中間体の生成と物質輸送や信号伝達の活性に関わるタンパク質側の活性構造変化を、光照射固体 NMR 分光法を用いて明らかにする研究を行っている。

【研究課題】

1）光照射固体 NMR による光受容膜蛋白質の光励起中間体生成機構の解明。

【代表的な文献】

1. T. Nagao, D. Mishima, N. Javkhlantugs, J. Wang, D. Ishioka, K. Yokota, K, Norisada, I. Kawamura, K. Ueda, A. Naito, Biochim. Biophys. Acta 2015, 1848, 2789-2798.
2. K. Ohshima, A. Shigeta, Y. Makino, I. Kawamura, T. Okitsu, A. Wada, S. Tuzi, T. Iwasa, A. Naito, Photochem. Photobiol. Sci., 2015, 14, 1694-1702.
3. H. Yomoda, Y. Makino, Y. Tomonaga, T. Hidaka, I. Kawamura, T. Okitsu, A. Wada, Y. Sudo, A. Naito, Angew. Chem. Int. Ed. 2014, 53, 6960-6964.

客員 PI 研究室

招へい准教授　　櫻井 一正　（sakurai@waka.kindai.ac.jp）

蛋白質はアミノ酸配列の情報に基づき、固有の天然構造を生体内で形成する。従来はこの天然構造が機能に重要だと考えられてきたが、近年は天然構造が固有の揺らぎを持つことも重要であることが分かってきた。我々は、蛋白質に圧力や温度などの摂動を加えた時に起こる構造変化を、NMR を中心とした各種分光法で調べている（図）。この測定結果から、生理条件下では見られない、活性に必要な励起構造を観測したり、その状態と天然状態との間の揺らぎのダイナミクスを解析したりしている。

また蛋白質は、ある条件下で本来の天然構造とは異なる、アミロイド線維と呼ばれる凝集体を形成することが分かってきた。アミロイド線維はアルツハイマー病やパーキンソン病といった疾病の原因であると示唆されており、アミロイド線維の除去や線維形成阻害の方法が分かれば、これらの疾病の予防、治療に繋がると考えられる。我々は、上記の圧力摂動測定を利用しアミロイド線維形成過程の物理化学的機構の解明を目指している。 さらに、原因蛋白質に結合し、アミロイド線維形成を抑制するたんぱく質の開発にも取り組んでいる。

図. 高圧 NMR 装置(左)と専用試料セルの模式図(右)

【研究課題】

1）　圧力摂動に伴う蛋白質の構造変化の測定とその熱力学的解析

2）　蛋白質異常凝集体形成の機構解明と阻害法の探索

【代表的な文献】

(1) Konuma, T.; Sakurai, K.; Yagi, M.; Goto, Y.; Fujisawa, T.; Takahashi, S., Highly Collapsed Conformation of the Initial Folding Intermediates of beta-Lactoglobulin with Non-Native alpha-Helix, *J Mol Biol* **2015**, 427, 3158-3165.

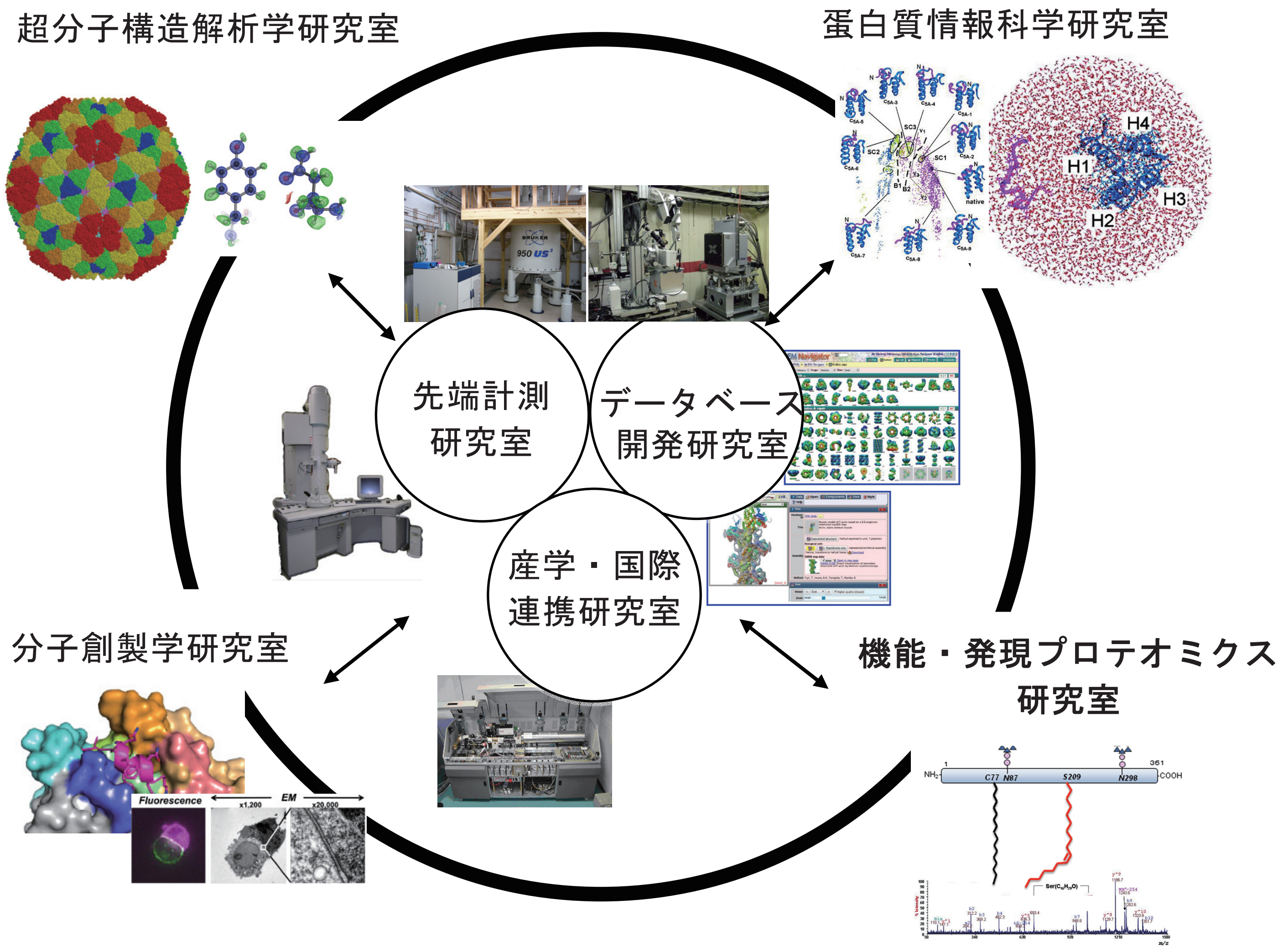
(2) Inaba, S.; Maeno, A.; Sakurai, K.; Narayanan, S.P.; Ikegami, T.; Akasaka, K.; Oda, M., Functional conformer of c-Myb DNA-binding domain revealed by variable temperature studies, *FEBS J* **2015**, 282, 4497-4514.

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

附属蛋白質解析先端研究センターは、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 2012 年 4 月に設立された。
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（tak@protein.osaka-u.ac.jp）

【研究概要】

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、質量スペクトルを感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。

【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

【研究トピックス】

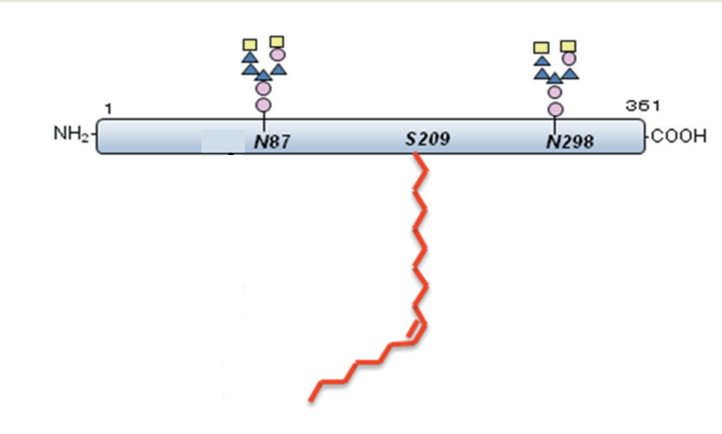


図 1 Wnt 蛋白質に見出された新規な脂質修飾(Dev. Cell 2006)と糖鎖修飾 (J. Cell Sci. 2013, 2015)

Wnt 蛋白質によって伝えられる情報は、動物の体の様々な組織が形作られる上で必要不可欠である。自然科学研究機構　岡崎統合バイオサイエンスセンター（高田慎二教授）との共同研究により、Wnt 蛋白質には特殊な脂質（パルミトレイン酸）が共有結合しており、この脂質の結合が細胞外への Wnt 蛋白質の分泌に必須であることを明らかにした。さらに、大阪大学大学院医学研究科（菊池章教授）との共同研究により、多様な機能を有する種々の Wnt 蛋白質における複数の Asn 結合型糖鎖を明らかにした。特に、Ser における脂質修飾は、生理活性ペプチドであるグレリンにつぎ2例目となるが、その構造はこれまでに報告のない新規な脂質（Δ9-C16:1）であることを質量分析法により明らかにした。この予想外の脂質修飾“パルミトレオイル化”は、蛋白質翻訳後修飾としてはこれまでに例がなく、生物が獲得した特異な構造を今回初めて明らかにしたことになり、この分野における新たな展開が期待される。

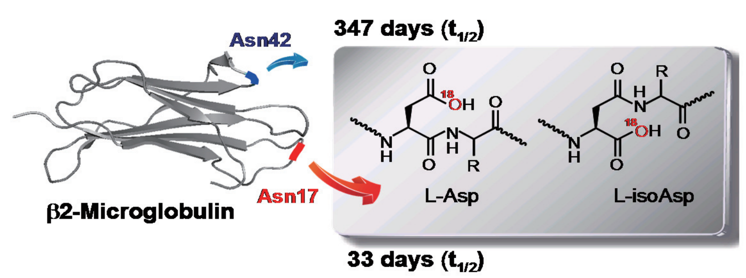


図２ 安定同位体 ^{18}O 標識による β2-ミクログロブリンの脱アミド化及び異性化反応の検出（Anal. Chem. 2012）

蛋白質は生体内で様々な化学変化や修飾を受けている。β2-ミクログロブリン（β2M）は MHC Class I を構成する１つのサブユニットであるが、遊離型として血液中に比較的多く存在し、循環している。我々は β2M のアミノ酸配列中に α↔β 転移し易い Asn-Gly 配列が２か所存在することに着目し、それらの溶液中での安定性について調べた。各々の Asn における転移速度は異なっており、その内 Asn17 は半減期が 33 日と比較的短い時間で転移することがわかった。この化学的変移は β2M の構造に少なからず影響し、特に、2価の銅イオンとの結合性が著しく変化していた。

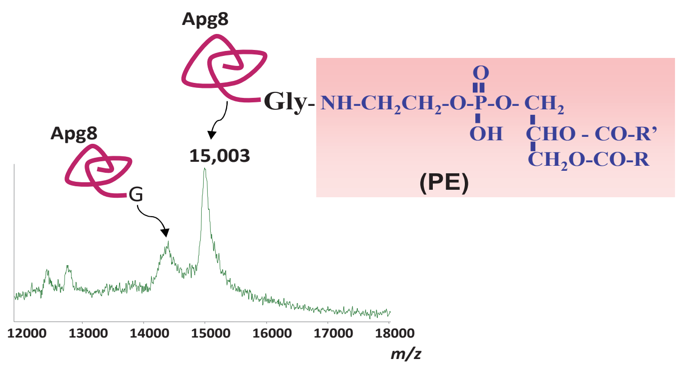


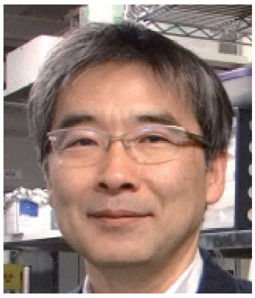
図３ 蛋白質（Apg8）C 末端のフォスファチジルエタノールアミン（PE）による翻訳後修飾（Nature 2000）

自然科学研究機構　基礎生物学研究所（大隅良典教授（当時）、現在、東京工業大学教授）との共同研究により、蛋白質 C 末端における新規な蛋白質翻訳後修飾として、フォスファチジルエタノールアミン（グリセロリン脂質の１種）による修飾を質量分析により初めて見いだした。この修飾は細胞内でおきるオートファゴソーム形成（オートファジー）に必須である。

【代表的な文献】

1. Free Thiol of Transthyretin in Human Plasma Most Accessible to Modification/Oxidation. Pereira CD, Minamino N, Takao T. (2015) **Anal Chem.** 87(21):10785-91.
2. Functional Link between Atg32-mediated Mitophagy and Phospholipid Methylation. Sakakibara K, Eiyama A, Suzuki SW, Sakoh-Nakatogawa M, Okumura N, Tani M, Hashimoto A, Kondo-Okamoto N, Kondo-Kakuta C, Asai E, Kirisako H, Nakatogawa H, Kuge O, Takao T, Ohsumi Y, Okamoto K (2015) **EMBO J**, 34(21):2703-19.
3. Basolateral secretion of Wnt5a in polarized epithelial cells is required for apical lumen formation. Yamamoto H, Awada C, Matsumoto S, Kaneiwa T, Sugimoto T, Takao T, and Kikuchi A (2015) **Journal of Cell Science**, 129, 1051-1063
4. Identification of cargo proteins specific for importin-β with importin-α applying a stable isotope labeling by amino acids in cell culture (SILAC)-based in vitro transport system. Kimura M , Okumura N , Kose S , Takao T , Imamoto N (2013) **J Biol Chem** 288:24540-24549.
5. Quantitative Analysis of Deamidation and Isomerization in β2-Microglobulin by ^{18}O Labeling. Fukuda M, Takao T (2012) **Anal. Chem.** 84, 10388-10394.
6. Affinity-Trap Polyacrylamide Gel Electrophoresis: A Novel Method of Capturing Specific Proteins by Electro-Transfer. Awada, C., Sato, T., Takao, T. (2010) **Anal. Chem.** 82, 755–761.
7. Mono-unsaturated Fatty Acid Modification of Wnt Protein: Its Role in Wnt Secretion. Takada R, Satomi Y, Kurata T, Ueno N, Norioka S, Kondoh H, Takao T, and Takada S. (2006) **Dev. Cell**, 11, 791-801.
8. Ubiquitination-like system mediates novel protein-lipidation. Ichimura, Y., Kirisako, T., Takao T., Satomi, Y., Shimonishi, Y., Ishihara, N., Mizushima, N., Ishii, T., Ohsumi, M., Noda, T., and Ohsumi, Y. (2000) **Nature** 408, 488-492.

分子創製学研究室



教　授　　高木　淳一　（E-mail: takagi@protein.osaka-u.ac.jp）
准教授　　岩崎　憲治
助　教　　北郷　悠
特任助教　海津正賢、松永幸子、宮崎直幸

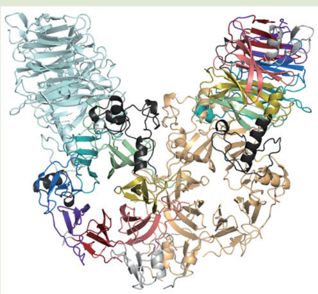
当研究グループでは、「生体膜」近傍での生物学的現象を蛋白質構造化学の目で切り取り、生物学研究の新たなステージを切り開くため、最新の構造生物学的手法を駆使した研究を行っている。細胞は外からの刺激を受容してその情報を細胞内で処理し、外的環境にたいしてどう対処するかを決定するが、ここで対象とするのは、ヒトの疾患に関わる種々の膜蛋白質、特に、脳・神経系で働く受容体やシナプス構成因子、神経細胞死や軸索ガイダンスに関わる分子、生物の発生や形態形成に関わるシグナル分子などの蛋白質である。レセプターが細胞外でその特異的パートナー（リガンド）と結合する際に起こる構造上の変化を「可視化」することが求められるが、そ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】

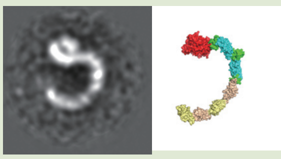
1）細胞接着因子や神経系の分化・形態形成因子、及びそのレセプターの構造・機能解析
2）構造情報を元にした新規蛋白質分子の創製
3）電顕、光顕、X 線など複数の手法を組み合わせた「相関構造解析法」の開発
4）「高難度」蛋白質の発現と精製、およびそのための独自のツール開発
5）電子顕微鏡イメージングによる不均一な構造の三次元可視化

【研究トピックス】

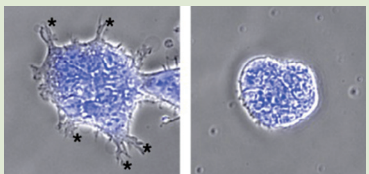
神経ガイダンス因子であるセマフォリンは、受容体プレキシンに結合して細胞にシグナルを伝え、神経細胞のみならず免疫細胞、骨細胞、がん細胞などにおいて多様な生理作用をもつため、創薬ターゲットとして極めて注目されている。我々は 2010 年にセマフォリンとプレキシンのシグナリング複合体の構造解析に世界で初めて成功し（文献 9）、その後も電子顕微鏡や X 線結晶構造解析の手法を用いてこのシグナリング系のメカニズム解明を目指してきた（文献 1）。タンパク質の構造解析だけではなく、その生理活性を評価する細胞アッセイ系を構築し、セマフォリンとプレキシンの「構造–活性相関」を明らかにするとともに、医薬のリードとなり得る阻害剤の発見なども達成している。



セマフォリン・プレキシン複合体の結晶構造

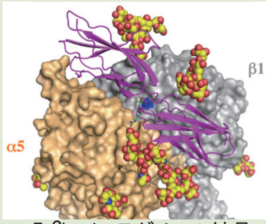


プレキシン受容体の電子顕微鏡像と予想モデル

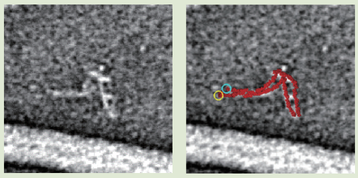


セマフォリン刺激前（左）と刺激後（右）の細胞の形態

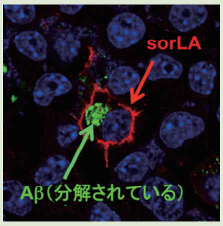
ヒトを含む多細胞動物の臓器・組織構築において、インテグリン、カドヘリンなどの細胞接着受容体は本質的に重要な役割を果たし、その異常はがんなどの疾患につながる。我々はほ乳類において主要な細胞外マトリックス接着受容体であるα5β1 インテグリンの細胞外領域の結晶構造解析を通して、そのリガンド認識機構を明らかにした（文献 8）。また、結晶構造解析の不可能な巨大カドヘリンについて電子顕微鏡イメージングを行い、その分子構造を 3 次元可視化することにも成功した（文献 6）。



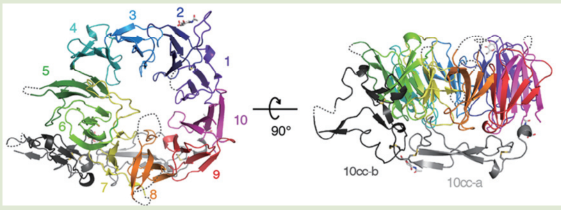
α5β1 インテグリンの結晶構造


巨大カドヘリンの TEM 像（左）と原子モデルのフィッティング（右）

アルツハイマー病は明確な予防法・治療法が確立していない難病の一つであり、その発症メカニズムにはアミロイドβAβペプチド凝集体の形成が関わっている。我々は 2014 年に、巨大受容体 sorLA が Aβを細胞内で直接捕捉し、分解経路へと誘導することを発見した（文献 5）。その後さらに sorLA の Aβ認識についての構造生物学的研究をすすめ、sorLA がその N 末端に存在する Vps10p ドメインを使って Aβをどのように認識して「脳を守って」いるのかを詳細に明らかにした（文献 4）。

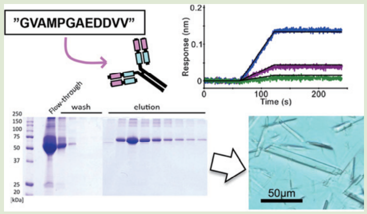


脳内受容体 sorLA による Aβ ペプチドの分解



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

微量タンパク質の1ステップ完全精製を可能にする超高親和性アフィニティータグシステム「PA タグ」（文献2）を含む多くの技術開発をおこない、その市販化を達成した。これらの技術を動員することで、幹細胞の分化と再生に必須な Wnt タンパク質を高活性状態で調製することにも成功した（文献 3）。



超高親和性アフィニティー精製システム"PA タグ"の開発

【代表的な文献】

1. Structure of the plexin ectodomain bound by semaphorin-mimicking antibodies. Suzuki et al. (2016) *PLoS One*, **11**: e0156719.
2. Tailored placement of a turn-forming PA tag into the structured domain of a protein to probe its conformational state. Fujii et al. (2016) *J. Cell Science,* **129**:1512-1522.
3. Active and water-soluble form of lipidated Wnt protein is maintained by a serum glycoprotein afamin/α-albumin. Mihara et al. (2016) *eLife*;**5**:e11621.
4. Structural basis for amyloidogenic peptide recognition by sorLA. Kitago et al. (2015) *Nature Struct. Mol. Biol.* **22**, 199-206.
5. Lysosomal sorting of amyloid-β by the SORLA receptor is impaired by a familial Alzheimer's disease mutation. Caglayan et al. (2014) *Science Transl. Med.*, **6**, 223ra20.
6. Giant cadherins Fat and Dachsous self-bend to organize properly spaced intercellular junctions. Tsukasaki et al. (2014) Proc. Natl. Acad. Sci. USA,**111**, 16011-16016.
7. Higher-order architecture of cell adhesion mediated by polymorphic synaptic adhesion molecules neurexin and neuroligin. Tanaka et al. (2012) *Cell Reports*, **2**, 101-110.
8. Crystal structure of α5β1 integrin ectodomain: Atomic details of the fibronectin receptor. Nagae et al. (2012) *J. Cell Biol.* **197**, 131-140.
9. Structural basis for semaphorin signaling through the plexin receptor. Nogi et al. (2010) *Nature* **467**, 1123-1127.

超分子構造解析学研究室

教　授　　中川　敦史（atsushi@protein.osaka-u.ac.jp）
准教授　　鈴木　守
助　教　　山下　栄樹、東浦　彰史

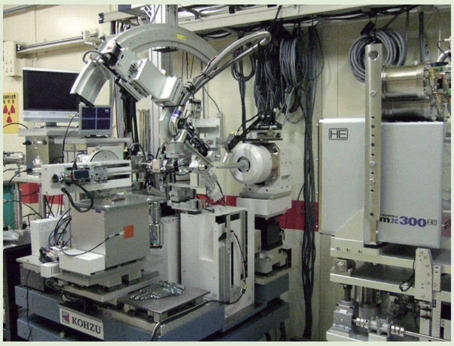
本研究室では、X線結晶構造解析法を用いて、数多くの蛋白質や核酸などの生体高分子が会合して働く、イネ萎縮ウイルス、超好熱菌由来ウイルス様粒子、緑膿菌の薬剤排出タンパク質複合体、核輸送複合体といった生体超分子複合体や、膜電位センサー蛋白質などの生物科学的に重要な蛋白質の構造生命科学研究を行っている。さらに、SPring-8 の生体超分子構造解析ビームラインを利用した生体超分子複合体からの高精度な回折強度データ収集法の開発や、結晶を必要としない構造解析として期待されているX線自由電子レーザーを利用したウイルス粒子のコヒーレント回折イメージング法の開発など、生体超分子複合体の構造解析のための新たな方法論の開発も行っている。

【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

【研究トピックス】

近年の蛋白質結晶学の飛躍的な進歩により、複雑な蛋白質の構造を短時間で決定することが可能となってきたが、解析が難航する場合も多く、解決しなければならない問題が数多く残っている。本研究室では、蛋白質結晶学のボトルネックを解決することを目指して研究を進めている。そのうちの一つとして、生体超分子複合体結晶の回折強度測定に最適した専用の放射光ビームラインをSPring-8 に設置し、運営を行っている。このビームラインは、生体超分子複合体結晶の回折強度データを高精度に短時間で測定することを目標として設計しているが、通常の蛋白質結晶の超高分解能回折強度データ収集も簡単に行うことができる。放射光ビームラインはサイエンスの進歩に伴って常に高度化を続けていく必要があり、ハードウェア・ソフトウェアともに継続して高度化を進めている。

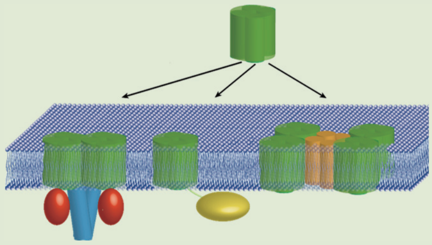


SPring-8 の蛋白研ビームライン BL44XU

また、本ビームラインは、全ビームタイムの約半分の時間を共同利用に供し、国内外の大学・研究機関に所属する研究者に利用されている他、台湾・国立放射光科学研究センターとの共同研究協定に基づいて、台湾放射光施設との相互利用や技術交換を行うなど、国内外の蛋白質結晶学分野のコミュニティーに対して貢献している。

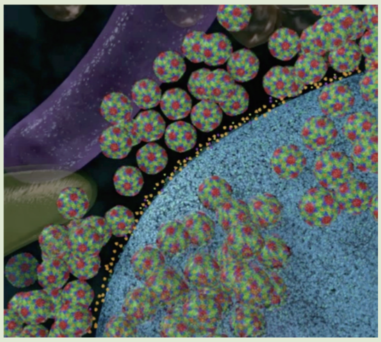
さらに、スウェーデン・ウプサラ大学との共同研究で、X線自由電子レーザーを利用した結晶を必要としない生体超分子複合体の構造解析法（Coherent X-ray Diffraction Imaging; CDI, CXDI）の開発を行っている。

細胞の膜電位変化を感じて様々な生理機能を発現する電位センサー蛋白質ファミリーについては、これまで電位依存性イオンチャネルについて詳細な研究が行われてきた。近年になって、細胞の膜電位変化によって酵素活性を制御したり、電位センサードメイン内を透過するプロトンの流れを制御したりするなど、従来知られてきた分子とは異なる仕組みで電気信号を細胞内へ伝達する新しい電位センサー蛋白質が見つかってきた。本研究室では、これら新規電位センサーファミリーの構造解析を通して、電気信号の情報伝達の動的な機構を解明し、生命科学の新しいパラダイムを切り開くとともに、そこから得られる知識を利用して戦略的に電気シグナルを可視化するツールの開発や，病態の解明や創薬につながる研究への発展を目指した研究を進めている。



電位センサー蛋白質ファミリー

植物レオウイルス、クロレラウイルス、薬剤排出蛋白質複合体など、複雑な生体超分子複合体の構造解析を目指した研究を進めている。特に、植物レオウイルスの研究では、イネ萎縮ウイルスを主なターゲットに、ウイルス粒子内部の転写複合体やゲノム、粒子の外側に存在する感染に関与する蛋白質など含むウイルス粒子の完全な構造の決定を目指すとともに、宿主への感染から、粒子形成、増殖、次の細胞への伝搬といったウイルスのライフサイクルを、原子構造に基づいて明らかにすることを目指して研究を進めている。



イネ萎縮ウイルスの宿主内での増殖モデル

【代表的な文献】

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., and Nakagawa, A. (2014) *Nature Structural & Molecular Biology*, **21**, 352-357.
2. 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 Communications*. 4, 1676-1688.
3. Structural insight into maintenance methylation by mouse DNA methyltransferase 1 (Dnmt1), Takeshita, K., Suetake, I., Yamashita, E., Suga, M., Narita, H., Nakagawa, A., and Tajima, S. (2011) *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **108**, 9055-9059.
4. High-resolution X-ray crystal structure of bovine H-protein at 0.88 Å resolution, Higashiura, A., Kurakane, T., Matsuda, M., Suzuki, M., Inaka, K., Sato, M., Kobayashi, T., Tanaka, T., Tanaka, H., Fujiwara, K., and Nakagawa, A. (2010) *Acta Crystallographica sect.* D, **66**, 698-708.
5. Crystal Structure of the Membrane Fusion Protein, MexA, of the Multidrug Transporter in *Pseudomonas aeruginosa*, Akama, H., Matsuura, T., Kashiwagi, S., Yoneyama, H., Narita, S., Tsukihara, T., Nakagawa, A., and Nakae, T. (2004) *Journal of Biological Chemistry*, **279**, 25939-25942.
6. The atomic structure of *Rice dwarf* virus reveals the self-assembly mechanism of component proteins, Nakagawa, A., Miyazaki, N., Taka, J., Naitow, H., Ogawa, A., Fujimoto, Z., Mizuno, H., Higashi, T., Watanabe, Y., Omura, T., Cheng, R.H., and Tsukihara, T. (2003), *Structure*, **11**, 1227-1238.

蛋白質情報科学研究室

教　授　　中村 春木（E-mail: harukin@protein.osaka-u.ac.jp）

准教授　　金城 玲

助教　　土屋 裕子

特任教授　　肥後 順一

特任准教授　　福田 育夫

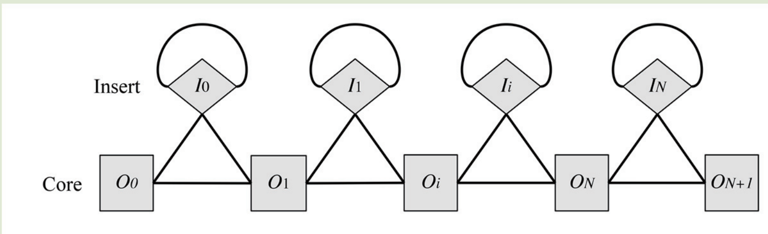
本研究室では、蛋白質情報科学研究として、次の研究を推進している。(1)蛋白質モデリングと設計等の構造バイオインフォマティクス研究：蛋白質アミノ酸配列の相同性に基づくホモロジー・モデル構築、抗体の抗原認識部位（CDR）の多様なループ構造の解析・予測、蛋白質-リガンド複合体および蛋白質-蛋白質複合体構造モデルの解析・予測、(2)新規データベースやウェブサービスの開発：PDBj の二次データベースとして分子表面のデータベースおよび基準振動解析による蛋白質ダイナミクスのデータベースとウェブサービス、(3)並列計算機や GPGPU を利用した大規模分子シミュレーション計算によって得られる自由エネルギー地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：オリジナルな高速分子動力学計算ソフトウェアの開発と、その応用による、蛋白質・蛋白質-リガンド複合体・蛋白質-蛋白質複合体等の構造とダイナミクスの解析、天然変性蛋白質の Coupled Folding and Binding 現象の解析

【研究課題】

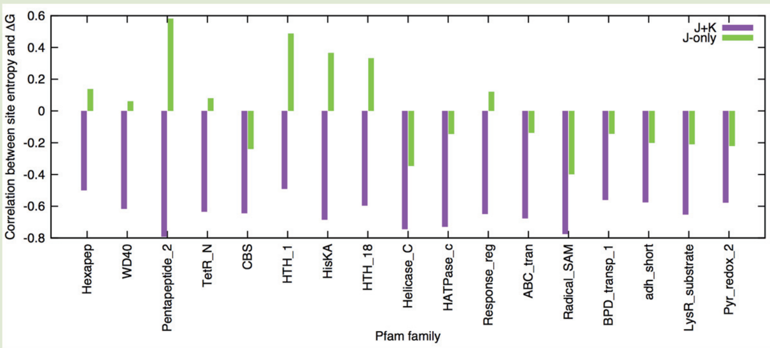
1） 蛋白質の構造と相互作用を解析・予測するバイオインフォマティクス研究
2） 新規な高速の分子動力学と高効率な構造探索のアルゴリズムおよびプログラムの開発
3） 上記計算科学手法を用いた蛋白質および蛋白質・基質複合体の構造・ダイナミクス・自由エネルギー地形の解析・予測

【研究トピックス】

近年の配列解読技術の進歩によって大量のアミノ酸配列が明らかになり、数万の配列を含む蛋白質の多重配列アラインメントも得られるようになった。このようなアラインメントからは配列上遠く離れたサイト間の相関が有意に見出せる。この情報をうまく使うことにより蛋白質の立体構造予測も大きく進歩した。我々は大きな多重配列アラインメントから得られる遠距離相関を取り込んだ多重配列アラインメントの統計モデルを構築し、配列と構造の関係などをよりよく理解できることを示した。特に機能的に重要な残基の保存度は遠距離相関なしでは説明がつかないことを明らかにした。(Kinjo, *Biophys. & Pysicobiol.* **13**, 45-62, 2016)



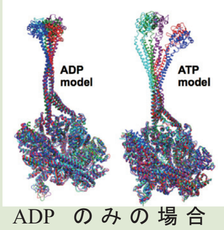
コアサイト O_i とインサートサイト I_i による格子構造モデル（i=0, 1, ..., N+1）



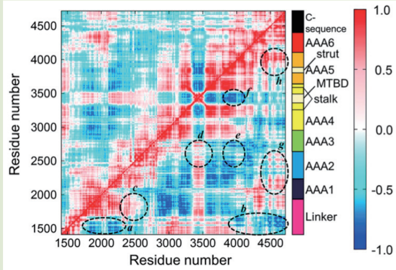
17 の Pfam ファミリーにおける Ala スキャニングの結果。遠距離相関を取り込んだモデル（J+K）ではサイトエントロピーと ΔG 間の負の相関が高い

蛋白質や核酸分子などの原子に働く力の中でも、最も遠距離に働くのは静電相互作用であり、ある距離以上の相互作用を単純に無視すると、分子動力学などの分子シミュレーションが正しく稼働しない。しかし、ペアワイズな計算となるため、粒子の数 N が増えるにつれ N^2 に比例して計算量が増える。この問題を回避するため、通常は周期境界条件を課した Ewald 法が用いられるが、膜蛋白質の系やマクロスコピックな揺らぎを扱う場合には問題がある。福田らは、Ewald 法による逆空間での計算を行わず、

実空間だけの静電相互作用計算を、比較的短距離の原子ペアのみで高精度で行える Zero-Multipole Summation Method（ZMM）を開発し（Fukuda et al., *J. Chem. Phys.* **140**, 194307, 2014）、GPGPU を用いた高速な独自の分子動力学(MD)計算プログラムを開発した。このプログラムを用いて、巨大なモーター蛋白質（Dynein）の系の分子動力学計算を行ったところ、ATP が AAA1 に結合している状態では、ADP のみの場合に比べてストークが大きく揺らぐことを発見した。（Kamiya et al., *PEDS* **29**, 2016, doi:10.1093/protein/gzw022）



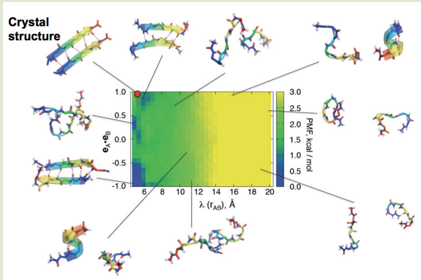
ADP のみの場合（左）と ATP 結合の場合（右）の Dynein の 200 ns MD の結果



ADP のみの場合（左上）と ATP 結合の場合（右下）の Dynein MD 結果による Dynamic cross correlations.

蛋白質や蛋白質複合体のダイナミクスを解析し、また安定な構造アンサンブルを知るためには、エントロピーも含めた自由エネルギーが、状態によってどのような値をとるかを表示する「自由エネルギー地形」の解析が有効である。そのためには、安定な状態および不安定な状態をそれぞれ効率的に探索し、最終的にある条件のカノニカル・アンサンブルを得る必要がある。

肥後らは、効率よくこの計算が行えるマルチカノニカル分子動力学計算法（Higo et al., *J Chem. Phys.* **138**, 184106, 2013）および Adaptive Umbrella Sampling (AUS) 法（Higo et al., *J. Comput. Chem.* **36**, 1489-1501, 2015）を開発し、天然変性蛋白質の Coupled Folding and Binding や抗体 CDR-H3 ループの構造多型(Nishigami et al., *PEDS* **29**, 2016, doi:10.1093/protein/gzw028）など、蛋白質の局所的に柔軟な部分の自由エネルギーを描き、その有効性を示した。



AUS 法によるアルツハイマー・ペプチド・ホモダイマーの２量体形成の自由エネルギー地形

【代表的な文献】

1. Kinjo AR, A unified statistical model of protein multiple sequence alignment integrating direct coupling and insertions. (2016) *Biophys. & Physicobiol.* **13**, 45-62.

2. Wang H, Nakamura H, Fukuda I, A critical appraisal of the zero-multipole method: Structural, thermodynamic, dielectric, and dynamical properties of a water system. (2016) *J. Chem. Phys.* **144**, 114503.

3. Higo J, Dasgupta B, Mashimo T, Kasahara K, Fukunishi Y, Nakamura H, Virtual-system coupled adaptive umbrella sampling to compute free-energy landscape for flexible molecular docking. (2015) *J. Comput. Chem.* **36,** 1489-1501.

4. Kinjo AR, Liquid-theory analogy of direct-coupling analysis of multiple-sequence alignment and its implications for protein structure prediction. (2015) *Biophys. & Physicobiol.* **12**, 117-119.

5. Aoki-Kinoshita KF, Kinjo AR, Morita M, Igarashi Y, Chen Y, Shigemoto Y, Fujisawa T, Akune Y, Katoda T, Kokubu A, Mori T, Nakao M, Kawashima S, Okamoto S, Katayama T, Ogishima S. Implementation of Linked Data in the Life Sciences at BioHackathon 2011. (2015) *J. Biomed. Semantics* **6**, 3.

6. Kasahara K, Fukuda I, Nakamura H, A Novel Approach of Dynamic Cross Correlation Analysis on Molecular Dynamics Simulations and its Application to Ets1 dimer–DNA Complex. (2014) *PLoS ONE* **9**, e112419.

7. Nishikawa K, Kinjo AR, Cooperation between phenotypic plasticity and genetic mutations can account for the cumulative selection in evolution. (2014) *BIOPHYSICS* **10**, 99-108.

8. Shirai H, Ikeda K, Yamashita K, Tsuchiya Y, Sarmiento J, Liang S, Morokata T, Mizuguchi K, Higo J, Standley DM, Nakamura H, High-resolution modeling of antibody structures by a combination of bioinformatics, expert knowledge, and molecular simulations. (2014) *Proteins* **82**, 1624-1635.

9. Mashimo T, Fukunishi Y, Kamiya N, Takano Y, Fukuda I, Nakamura H, Molecular dynamics simulations accelerated by GPU for biological macromolecules with a non-Ewald scheme for electrostatic interactions. (2013) *J. Chem. Theory Comput.* **9**, 5599-5609.

先端計測研究室

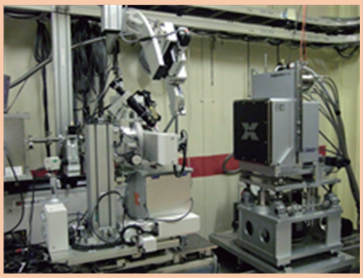
中川敦史（教授）、高木淳一（教授）、高尾敏文（教授）、佐藤毅（講師）、山下栄樹（助教）、東浦彰史（助教）
杉木俊彦（特任助教）、乗岡尚子（技術専門職員）

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。

放射光解析グループ

HP: http://www.protein.osaka-u.ac.jp/rcsfp/supracryst/research/beamline/

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。

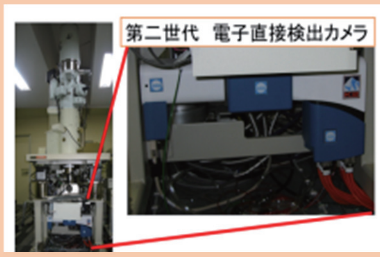


NMR 構造解析グループ

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。

電子線解析グループ

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ている。



分子解析グループ

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。

蛋白質データベース開発研究室

中村　春木（教授）、藤原　敏道（教授）、金城　玲（准教授）、小林　直宏（特任准教授）

PDBj グループ

PDBj (Protein Data Bank Japan: http://pdbj.org)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。

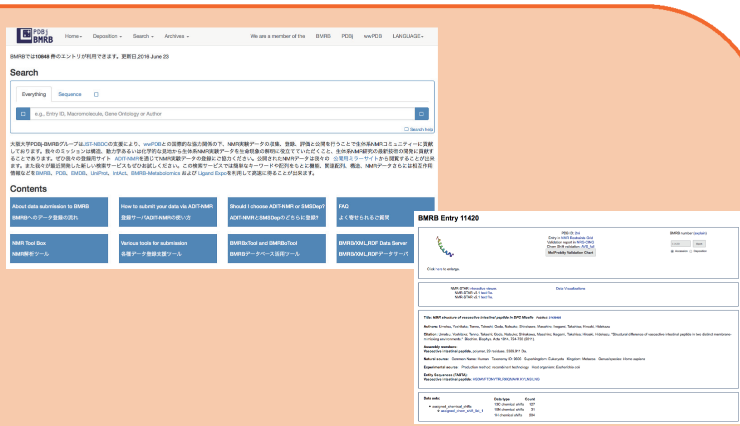
【文献】

1) Kinjo AR, Suzuki H, Yamashita R, Ikegawa Y, Kudou T, Igarashi R, Kengaku Y, Cho H, Standley DM, Nakagawa A, Nakamura H, Protein Data Bank Japan (PDBj): maintaining a structural data archive and resource description framework format. (2012) *Nucl. Acids Res.* **40**, D453-D460.

2) Kinjo AR, Yamashita R, Nakamura H, PDBj Mine: Design and implementation of relational database interface for Protein Data Bank Japan. (2010) Database 2010:baq021.

PDBj-BMRB (BioMagResBank) グループ

連核磁気共鳴（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 と協力して運営している(http://bmrbdep.pdbj.org/)。図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。



【文献】

1) Yokochi M, Kobayashi N, Ulrich EL, Kinjo AR, Iwata T, Ioannidis YE, Livny M, Markley JL, Nakamura H, Kojima C, Fujiwara T, Publication of nuclear magnetic resonance experimental data with semantic web technology and the application thereof to biomedical research of proteins. (2016) *J. Biomed. Semantics* **7**, 16.

2) Kobayashi N, Harano Y, Tochio N, Nakatani E, Kigawa T, Yokoyama S, Mading S, Ulrich EL, Markley JL, Akutsu H, Fujiwara T. An automated system designed for large scale NMR data deposition and annotation: Application to over 600 assigned chemical shift data entries to the BioMagResBank from the RIKEN Structural Genomics/Proteomics Initiative internal database. (2012) *J. Biomol. NMR* **53**, 311-320

CSD (Cambridge Structural Database) グループ

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(http://www.protein.osaka-u.ac.jp/csd/csd.html)も提供している。

産学・国際連携研究室

客員教授　　阪下 日登志　（sakashita.hitoshi@aist.go.jp）

製薬会社での経験を生かし、アカデミア創薬にほとんど無い化合物探索を行う。疾患標的候補蛋白質と化合物の複合体構造および相互作用解析の実験データに基づくドラッグデザインを行う研究グループを目指す。

有望な創薬標的の設定が製薬企業の重要課題であり、標的妥当性を検証しうる高活性化合物の獲得が切望されている。高効率な探索方法により高活性化合物の早期に獲得し、アカデミアにおける基礎的研究と製薬企業における研究開発との間隙を化合物で克服して、「橋渡し」を行うのが最終目標である。また、標的妥当性を検証できるようなツール化合物ができれば、疾患研究へのフィードバックおよび生命現象の理解を進めるツールとして活用でき、生命科学の発展にも寄与できると考えている。

【研究課題】

現在計画している産学連携コンソーシアムで、顧みられない熱帯病　（NTD：Neglected　Tropical Disease）のうち寄生原虫によるシャーガス病に関する研究を開始している。標的探索から始め開発候補化合物の取得までを参加研究機関との連携で行う。

【代表的な文献】

ハイスループット X 線構造解析と FBDD　ファルマシア　Vol.50 No.5 408–412(2014)　阪下日登志

Yamasaki, K., Tani, O., Tateishi, Y., Tanabe, E., Namatame, I., Niimi, T., Furukawa, K., Sakashita, H.: An NMR biochemical assay for fragment-based drug discovery: evaluation of an inhibitor activity on spermidine synthase of Trypanosoma cruzi. J. Med. Chem., 59(5), 2261-2266 (2016).

寄　附　研　究　部　門

マトリクソーム科学（ニッピ）寄附研究部門

寄附研究部門教授　関口 清俊　（sekiguch@protein.osaka-u.ac.jp）
助教（兼）　山田 雅司
寄附研究部門助教　藤田 和将

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／iPS 細胞等の多能性幹細胞やそこから分化誘導した細胞を生体外で培養・維持するための新しい細胞培養技術の開発を行っている。

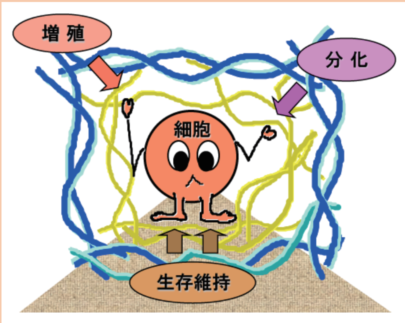


図1：細胞外マトリックスによる細胞の増殖・分化・生存維持. 細胞は周囲の細胞外マトリックスに接着することにより、生存を維持し、増殖と分化形質の制御を行なっている。細胞周囲の細胞外マトリックスの組成は、細胞ごとにカスタマイズされている。

【研究課題】

1）発生における基底膜蛋白質の網羅的局在解析
2）細胞外マトリックスによる細胞機能制御の分子機構
3）インテグリンによるリガンド識別機構
4）間葉系細胞が発現するマトリックス分子 polydom の機能解析
5）幹細胞の増幅および分化誘導に有用な培養基材の開発

【代表的な文献】

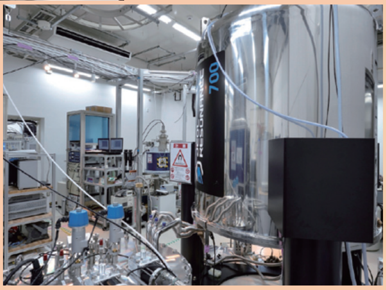
1. Molecular basis of the ligand binding specificity of αvβ8 integrin. Ozawa A, Sato Y, Imabayashi T, Uemura T, Takagi J, Sekiguchi K (2016) *J. Biol. Chem.* **291**, 11551-11565.
2. Molecular basis of laminin-integrin interactions. Yamada M and Sekiguchi K (2015) *Curr. Top Membr.* **76**, 197-229.
3. A novel efficient feeder-free culture system for the derivation of human induced pluripotent stem cells. Nakagawa M, et al. (2013) *Sci. Rep.* **4**, 3594. doi:10.1038/srep03594.
4. Polydom/SVEP1 is a ligand for integrin α9β1. Sato-Nishiuchi R, Nakano I, Ozawa A, Sato Y, Takeichi M, Kiyozumi D, Yamazaki K, Yasunaga T, Futaki S, Sekiguchi K (2012) *J. Biol. Chem.* **287**, 25615-25630.
5. Basement membrnane assembly of the integrin α8β1 ligand nephronectin requires Fraser syndrome-associated proteins. Kiyozumi D, Takeichi M, Nakano I, Sato Y, Fukuda T, Sekiguchi K (2012) *J. Cell Biol.* **197**, 677-689.
6. Transcriptome-based systematic identification of extracellular matrix proteins. Manabe R, et al. (2008) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **105**, 12849-12854.

マルチスケール構造生物学（日本電子）寄附研究部門

中村　春木（教授/兼任）、川端　猛（寄附研究部門准教授）

近年、マルチスケール構造生物学という、蛋白質の原子レベルでの構造や、生体内装置、さらには細胞の構造を俯瞰的に観測し、その動的構造を研究することが生命科学の新たな世界の潮流となっている。これは、Cryo-TEM（クライオ電子顕微鏡）や NMR（核磁気共鳴装置）等の最先端の計測手法を駆使し、原子スケールで生物の機能を解き明かし、新薬開発等のイノベーションの源泉を創るものである。日本電子株式会社と株式会社 JEOL RESONANCE の寄附によって設立された本寄附研究部門では、最先端の計測技術をより広く提供できるよう、試料前処理方法の改良、データ計測や解析手法の簡易化を行い、共用プラットフォームの利用を通じて、社会に成果を還元することを目指す。また、これまで解析できなかった蛋白質の構造解析を可能とするための高度な解析手法を開発することにより、新薬開発などの研究開発に新たな地平線を開き、イノベーションの源泉とする。

急速凍結した精製蛋白質等の試料を凍結状態のままで電子顕微鏡内に装填し超低温で観察するクライオ電子顕微鏡



電子スピン-核スピン間の偏極移動（動的核偏極：DNP）を利用し、従来法の500倍を超える感度を持つ DNP-固体 NMR 装置

技 術 部

技術専門職員	川上　恵子	（高木研　Tel:（内）9237） keiko@protein.osaka-u.ac.jp
	小佐田　高史	（中村研　Tel:（内）9286） takasi@protein.osaka-u.ac.jp
	乗岡　尚子	（栗栖研　Tel:（内）8605） naoko@protein.osaka-u.ac.jp
技術職員	阿部　直行	（藤原研　Tel:（内）4316） n_abe@protein.osaka-u.ac.jp
	辻井　寿典	（古川研　Tel:（内）4852） toshinori.tsujii@protein.osaka-u.ac.jp

http://www.protein.osaka-u.ac.jp/gijutsu/index.html

【活動報告】

① 動物実験室（辻井）

実験動物飼育室の管理維持（SPF マウス、ラット）
実験動物取り扱い方法の技術指導
遺伝子改変マウスの作製
マウス凍結胚の作製、凍結胚からの個体復元

② RI 実験室（阿部）

RI実験室の維持管理（排気排水設備等点検補修、廃棄物処理等）
分析機器の整備（液体シンチレーションカウンター、RIイメージングアナライザー）
放射線取扱業務従事者の管理
H27 年度従事登録者 148 名（内RI実験室利用者 45、外部施設利用者 43）

③ 計算機システム、X 線結晶構造解析装置（小佐田）

H27 年度 CPU サーバ利用実績：所内 36 人、他大学 4 人、その他 2 人。

④ 先端計測研究室　分子解析グループ（乗岡、川上）

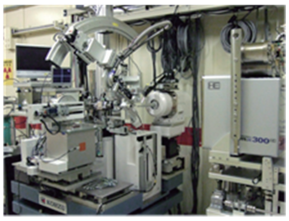
分子解析室共同利用機器の整備（質量分析計、HPLC、濃縮遠心機等）
N 末端アミノ酸配列受託分析
ABI Procise 49cLC （H27 年度実績： 所内、理学部、星薬科大、新潟大、筑波大、室蘭工大、広島大）
島津 PPSQ　（所内のみ　H27 年度実績： 総計 234 サンプル）

⑤ 所属研究室での業務

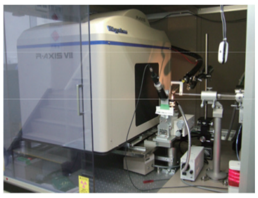
主要装置

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



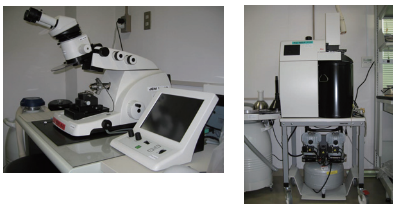
4. 高分解能溶液 NMR 装置(400、500、600、800、950 MHz)および 高分解能固体 NMR 装置(500、600、700 MHz)

6. 蛋白質相互作用解析装置

7. 透過型電子顕微鏡

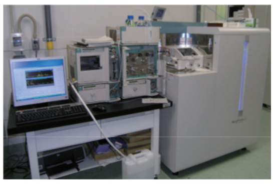
8. 環境制御型 TEM 試料急速凍結装置

9. ウルトラミクロトームシステムおよび 高圧凍結装置

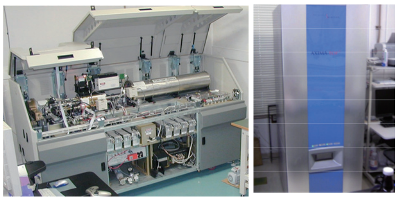


10. 分析用超遠心機

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

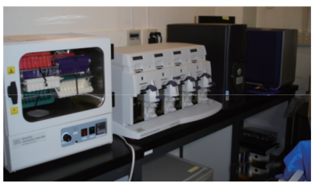


13. microLC システム/ MALDI プレートスポッター

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

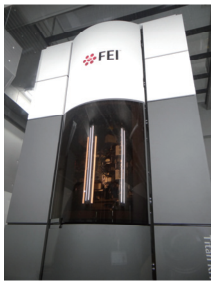
22. GPGPU(28 台)搭載の PC クラスター・システム

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

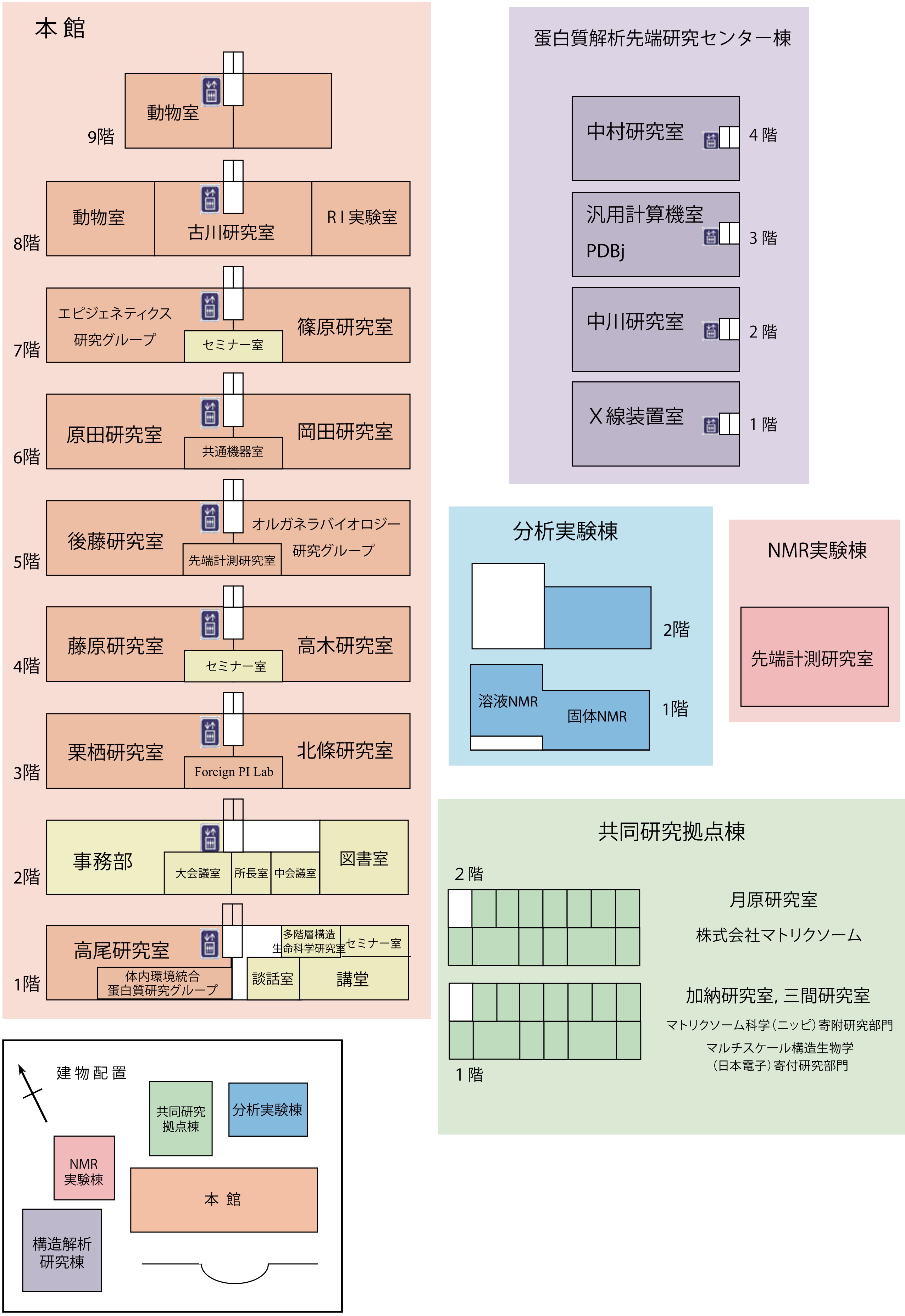
26. 近原子分解能構造解析システム



27. 試料急速クライオ凍結装置

28. 結晶高圧凍結装置

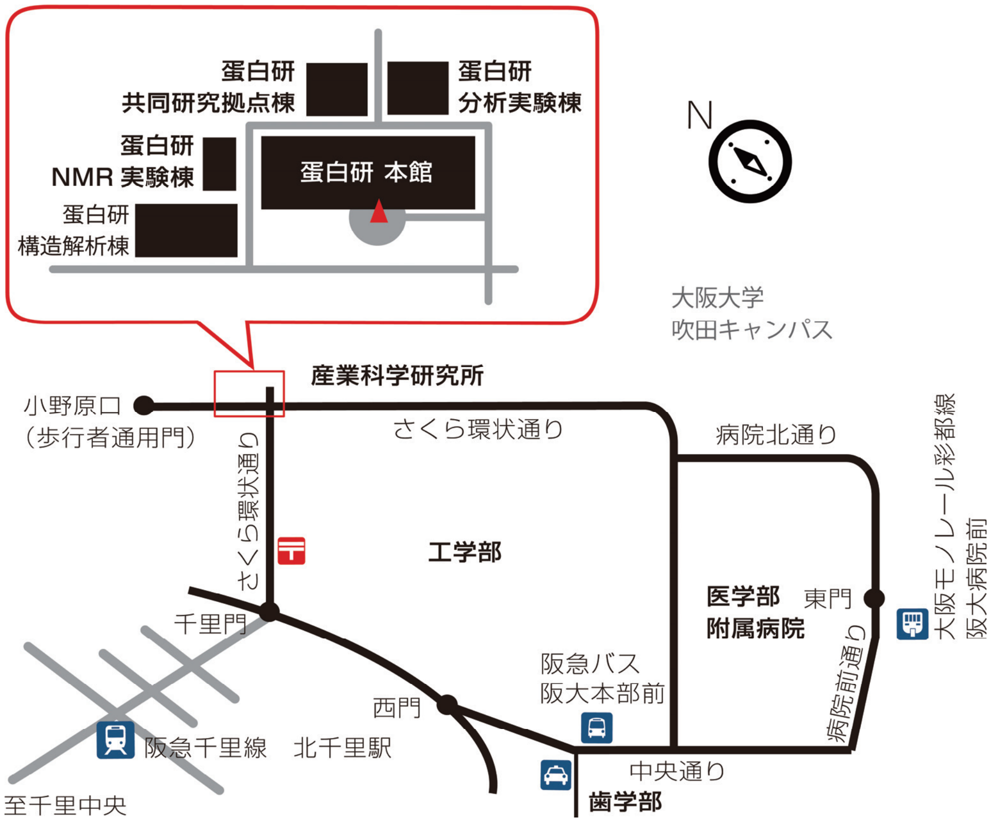
建物配置図



本 館
9階
動物室
8階
動物室
古川研究室
R I 実験室
7階
エピジェネティクス
研究グループ
セミナー室
篠原研究室
6階
原田研究室
共通機器室
岡田研究室
5階
後藤研究室
先端計測研究室
オルガネラバイオロジー
研究グループ
4階
藤原研究室
セミナー室
高木研究室
3階
栗栖研究室
Foreign PI Lab
北條研究室
2階
事務部
大会議室
所長室
中会議室
図書室
1階
高尾研究室
体内環境統合
蛋白質研究グループ
多階層構造
生命科学研究室
セミナー室
談話室
講堂
蛋白質解析先端研究センター棟
中村研究室
4 階
汎用計算機室
PDBj
3 階
中川研究室
2 階
X 線装置室
1 階
分析実験棟
2階
溶液NMR
固体NMR
1階
NMR実験棟
先端計測研究室
共同研究拠点棟
2 階
月原研究室
株式会社マトリクソーム
加納研究室, 三間研究室
マトリクソーム科学（ニッピ）寄附研究部門
マルチスケール構造生物学
（日本電子）寄付研究部門
1 階
建 物 配 置
共同研究
拠点棟
分析実験棟
NMR
実験棟
本 館
構造解析
研究棟

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

INSTITUTE for PROTEIN RESEARCH

OSAKA UNIVERSITY