



IPR

要覧2020

大阪大学 蛋白質研究所

目次 CONTENTS

● ごあいさつ	1
● 理念と展望	2
● 機構図	3
● 蛋白質化学研究部門	5
蛋白質有機化学研究室	
蛋白質ナノ科学研究室	
分子創製学研究室	
機能・発現プロテオミクス研究室	
膜蛋白質化学研究室	
● 蛋白質構造生物学研究部門	15
機能構造計測学研究室	
蛋白質結晶学研究室	
電子線構造生物学研究室	
超分子構造解析学研究室	
● 蛋白質高次機能学研究部門	25
分子発生学研究室	
ゲノム－染色体機能研究室	
高次脳機能学研究室	
オルガネラバイオロジー研究室	
● 蛋白質ネットワーク生物学研究部門	33
細胞システム研究室	
計算生物学研究室	
細胞核動態情報研究室	
感染病態システム研究室	
客員PI研究室	
● 蛋白質次世代構造解析センター	41
プロテインデータバンク研究室	
高磁場NMR分光学研究室	
高輝度放射光結晶解析研究室	
高分解能クライオ電子顕微鏡研究室	
生体分子解析研究室	
産学・国際連携研究室	
● 寄附研究部門	49
マトリクソーム科学（ニッピ）寄附研究部門	
● 技術部	51
技術部	
● 蛋白研について	53
● ACCESS MAP	66

蛋白研は、1958年に大阪大学の理学部と医学部が母体となり全国共同利用の附置研究所として、赤堀四郎先生を初代所長として大阪大学に設置されました。設立当初から、化学、生物学、物理学、医学の研究者が集まり、生命活動を担う重要な分子である蛋白質を核に学際的な研究を展開し、分子レベルから個体レベルで生命現象を理解していくことを目指した研究を続けるとともに、共同利用研究所としての活動を通して国内外の蛋白質科学研究をリードしてきたと自負しています。

設立時には、蛋白質有機化学研究部門、蛋白質溶液学研究部門、蛋白質代謝部門の3つの部門(研究室)のみから構成されていた蛋白研ですが、蛋白質科学、生命科学の進歩とともにより幅広い分野を研究対象として発展して来ました。2020年10月には、従来の部門ではカバーできなかった蛋白質相互作用ネットワークに基づく生命現象の解明を目指した「蛋白質ネットワーク生物学研究部門」と、日本蛋白質構造データバンク(PDBj)の活動や様々な蛋白質構造解析技術の高度化とそれらを連携した相関構造解析技術の開発を通して共同利用・共同研究拠点としての諸機能をさらに強化することを目指した「附属蛋白質次世代構造解析センター」を設置し、現在では、5研究部門19研究室(寄附研究部門を含む)、附属蛋白質次世代構造解析センター6研究室からなる組織に発展しています。

創設時から、全国から多くの研究者が来所され、研究所の施設・装置や研究のノウハウを共有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きましたが、共同利用制度の改革により、2010年4月からは、蛋白質研究共同利用共同研究拠点に選ばれて、蛋白質研究のコミュニティーにより一層貢献できる体制を作り、さらに活発に活動を続けています。この活動では、共同研究員、国際共同研究、客員フェローといった研究活動を推進するための事業、研究者コミュニティーの形成や情報交換の場を提供する蛋白研セミナーの開催と支援、SPRING-8の放射光ビームライン、超高磁場核磁気共鳴(NMR)装置群、最新鋭のクライオ電子顕微鏡などの大型装置の利用支援、蛋白質研究の基礎となる蛋白質構造データベースの構築と公開などが行われており、蛋白質科学を中心とする生命科学の研究拠点として活動を続けています。特に、データベース事業においては、蛋白質構造データバンク(PDB)

の世界4拠点の一つとしてPDBjを運営し、アジア・オセアニア地区のデータ登録や種々のサービスを行うとともに、PDBj-BMRBとして生体系NMRデータベースを米国BMRBと共同で運営しています。また、放射光ビームラインでは、台湾国立放射光科学研究センターとの共同研究協定を通じたアジア・オセアニアの構造生物学ネットワーク形成を進めるなど、国際共同研究制度と共に、様々な国際的な共同利用・共同研究活動を進め、現在15の研究機関と学術国際交流協定を結んで国際的にもプレゼンスを示しています。

蛋白研の教員は、先端的な研究を進める一方で、それらの研究に裏打ちされた講義や実習を、大阪大学理学部、医学部と工学部、および大学院理学研究科、医学系研究科、生命機能研究科、工学研究科の学生に対して積極的に行っており、特に学部生と大学院生あわせて120名前後の学生が、蛋白研で教育を受け、研究を行っています。さらに、30人程度の博士研究員が様々な研究プロジェクトに関与して、日夜研究を進めています。国内外から集まってきたこれらの若い学生や博士研究員は、蛋白研の活動を支える重要な人材であるとともに、今後の生命科学の中心となりうる人材として期待されています。

近年、生命科学は大きく発展してきていますが、生命現象を真に理解するためには、個々の分子の詳細な構造に基づき、それらのネットワークを理解して、様々な研究手法を統合することで、高次な生命機能をシステムとして解明し、機能デザインを可能とする新しい蛋白質科学を発展させていくことが求められています。教員、博士研究員、技術職員、事務職員、学生等あわせて約250名からなる蛋白研は、研究室・分野・施設・国境の垣根を越えて、生命科学の礎となる新しい蛋白質科学を発展させ、国内外の次世代の研究者を育てていくことを目指しています。

本蛋白質研究所要覧は、蛋白研の活動・成果等を1つの冊子にまとめたものであり、私たちの活動状況をお伝えできればと考えています。

蛋白質研究所 所長

中川 敦史

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じて、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、共同研究員、蛋白研セミナーなどを通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、SPring-8の専用ビームライン、超高磁場（溶液および固体）NMR装置群、クライオ電子顕微鏡などの大型機器の利用提供や、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。

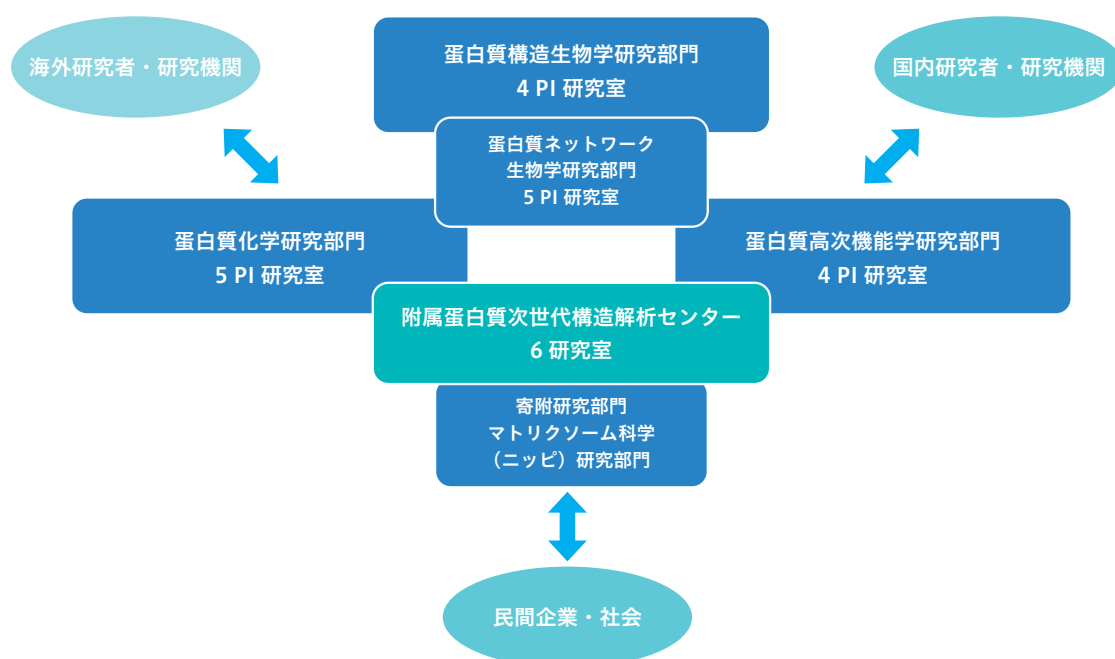
このような理念に基づき、2010年に共同利用・共同研究拠点として文部科学省から認定され、国内外の蛋白質研

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、世界拠点を目指した新たな活動を進めております。

近年の生命科学の進歩は著しく、その根幹の1つとなる蛋白質科学も急速に進歩しています。生命活動の主役を担う蛋白質の研究は、従来の研究分野の更なる深化に加え、その枠を超えた生物の階層構造を俯瞰するマルチスケールの構造研究から蛋白質相互作用ネットワークの機能の理解へと新たな展開が求められており、そのような要求に対応するために、2020年10月に「多階層蛋白質統合研究部門」を「蛋白質ネットワーク生物学研究部門」に発展的に再編し、さらに、「附属蛋白質解析先端研究センター」を「附属蛋白質次世代構造解析センター」に改組を行いました。今後は、蛋白質研究のさらなる強化を図り、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、「教育・人材育成の理念」を掲げて大学の枠を超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。一方、2017年度からは学内に大学院生向けの高度副プログラム「蛋白質先端研究プログラム」を開講し、大阪大学全学から蛋白質科学に興味がある学生に研究所独自の教育科目を提供しております。

さらに、企業からの寄附金に基づく寄附研究部門を設立するなど、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して、社会との連携も強化していきます。





蛋白質研究所ホームページをリニューアルしました
<http://www.protein.osaka-u.ac.jp/>



2020年10月に蛋白研ホームページをリニューアルいたしました。
今回のリニューアルでは、より見やすく、使いやすく、親しみやすいホームページを目指して、デザインやメニュー構成を見直し、新コンテンツも追加しました。
今後も多くの皆様にご利用いただけるサイト作りを目指し、内容のさらなる充実を図り、より活用しやすい情報提供を行ってまいります。



蛋白質化学研究部門

- 蛋白質有機化学研究室
- 蛋白質ナノ科学研究室
- 分子創製学研究室
- 機能・発現プロテオミクス研究室
- 膜蛋白質化学研究室

蛋白質有機化学研究室

北條 裕信 教授

hojo@protein.osaka-u.ac.jp

准教授 川上 徹

助 教 朝比奈 雄也



有機化学を利用して蛋白質の翻訳後修飾の機能解析をおこなう

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) 蛋白質の化学合成戦略の開発
- 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、構造解析
- 4) 糖タンパク質の合成とその機能解析

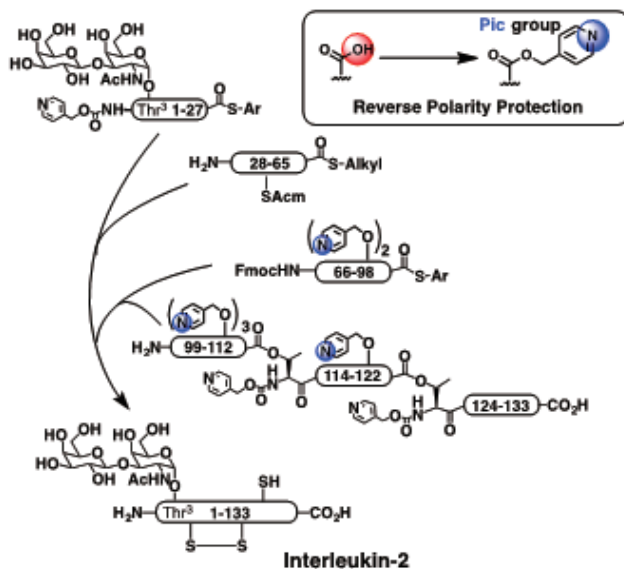
研究トピックス

◆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、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 4)。

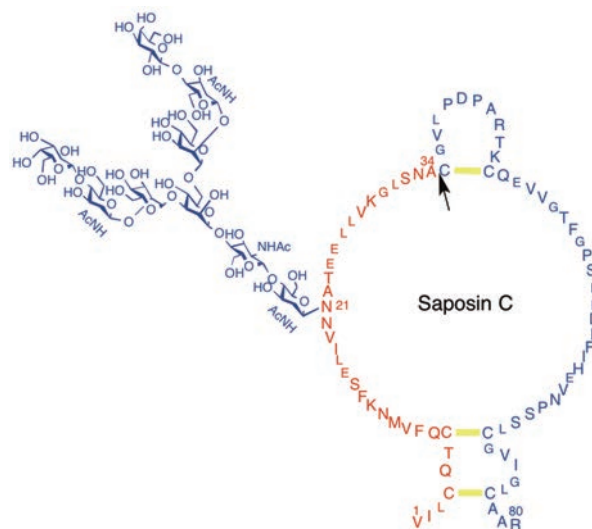
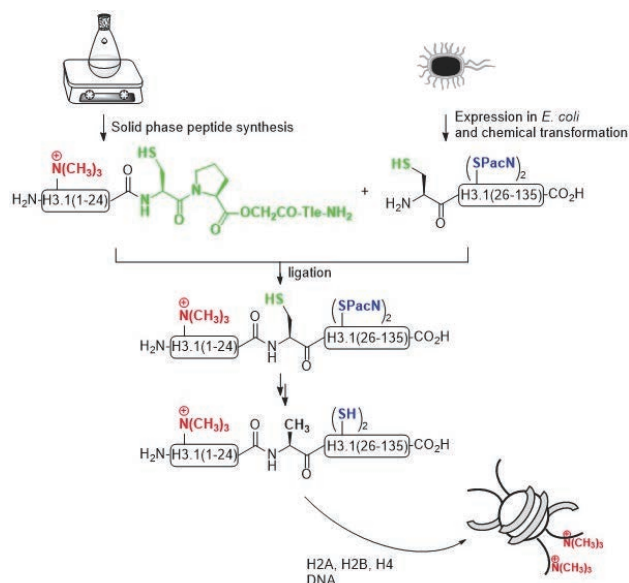
また、4つのセグメントを連続的に縮合することにより、縮合途上の精製を省略して効率的な(糖)蛋白質合成を実現した(文献 1)。

これらの手法は、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

◆グリコシル化は天然蛋白質の約半数にも及び一般的な翻訳後修飾である。近年、これらの糖鎖は細胞の増殖や分化、またウイルス感染等、種々の生物学的過程に関わっていることが明らかになってきている。しかし、その詳細に関しては、まだ不明な点が多い。多くの糖転移酵素によって形成される蛋白質上の糖鎖は高度に不均一であり、糖鎖構造と機能との間の相関関係を明らかにする上で大きな障害となっている。そこで、我々は、糖蛋白質の化学的な化学合成法を確立し、均一な糖鎖を持つ合成蛋白質を機能解析に用いることにより、糖鎖機能に迫ろうと考えている。これまでに、saposin C、TIM-3 Igドメイン、インターロイキン-2等の糖蛋白質を合成し、その機能、構造解析研究を進めている。



1. Glycopeptide Synthesis Based on a TFA-Labile Protection Strategy and One-Pot Four-Segment Ligation for the Synthesis of O-Glycosylated Histone H2A, Asahina Y, Kawakami T, Hojo H (2019) *Eur. J. Org. Chem.*, **2019**, 1915-1920.
2. One-Pot Four-Segment Ligation using Seleno- and Thioesters: Synthesis of Superoxide Dismutase, Takei T, Andoh T, Takao T, Hojo H (2017) *Ang. Chem. Int. Ed.*, **56**, 15708–15711.
3. Preparation of Selenoinsulin as a Long-Lasting Insulin Analogue. Arai K, Takei T, Okumura M, Watanabe S, Amagai Y, Asahina Y, Moroder L, Hojo H, Inaba K, Iwaoka M (2017) *Ang. Chem. Int. Ed.*, **56**, 5522-5526.
4. Structure of the Dnmt1 Reader Module Complexed with a Unique Two-Mono-Ubiquitin Mark on Histone H3 Reveals the Basis for DNA Methylation Maintenance, Ishiyama S, Nishiyama A, Saeki Y, Moritsugu K, Morimoto D, Yamaguchi L, Arai N, Matsumura R, Kawakami T, Mishima Y, Hojo H, Shimamura S, Ishikawa F, Tajima S, Tanaka K, Ariyoshi M, Shirakawa M, Ikeguchi M, Kidera A, Suetake I, Arita K, Nakanishi M (2017) *Molecular Cell*, **68**, 350–360.
5. 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.
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.

原田 慶恵 教授

yharada@protein.osaka-u.ac.jp

講師 鈴木 団

助教 外間 進悟



光学顕微鏡を使って、生体分子の働くしくみや細胞の機能を調べる

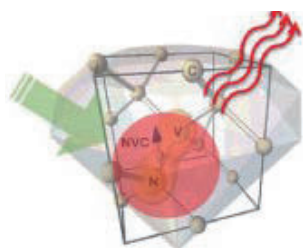
我々の体の中で機能している生体分子の大きさはおよそ数 nm から数百 nm。この大きさはちょうど、ナノとマクロの接点として“メゾ”領域と呼ばれる。生体分子の住むこのメゾ領域の世界が我々の住むマクロな世界と決定的に違うのは、「熱ゆらぎ」が無視できないという点にある。体の中で、生体分子は、大きな熱ゆらぎに常にさらされている。そのため生体分子は、熱ゆらぎを無視できる大きな人工機械の働く仕組みとは異なり、熱ゆらぎを巧みに利用しながら機能していると考えられている。たとえば RNA ポリメラーゼが DNA 上のプロモーター部位を探るとき、DNA 上を1次元拡散運動することが知られており、これはプロモーター部位の探索に熱ゆらぎを上手く利用している可能性を示唆している。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、我々の主要な研究目的である。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。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。さらに、このような生体分子の活動が細胞内に引き起こす結果の一つとして、熱(温度変化)をとりあげ、細胞内の温度変化を1細胞未満の解像度で計測しようとする研究にも取り組んでいる。

研究課題

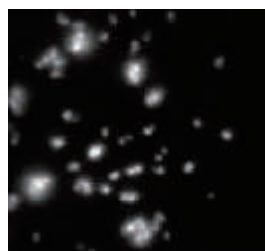
- 1) 蛍光ダイヤモンドナノ粒子を使った新規1分子イメージング法の開発
- 2) 細胞内局所温度計測技術の開発

研究トピックス

◆生体分子の1分子観察に従来使われてきた蛍光プローブ(有機色素や量子ドット)には、退色や明滅(ブリンキング)によるシグナル安定性の問題や、生体内や細胞内にもともと存在する蛍光(自家蛍光)と区別が付かない点、あるいは、ナノレベルの回転運動や角度変位を精度よく捕らえることが難しい、といった問題点がある。我々はそれらの問題点を克服することができる新しい蛍光プローブとして、ダイヤモンドナノ粒子の蛍光特性に着目した。ダイヤモンド内に存在するマイナースに荷電した窒素-格子空孔中心(NVC)は、560 nm 付近の光で励起され蛍光を発する。NVC の蛍光は、退色やブリンキングが無く、長時間の観察が可能だけでなく、磁気共鳴技術を使って蛍光強度を制御(外部変調)することができるという特殊な性質を持っている。これらの性質を利用して、自家蛍光とダイヤモンドナノ粒子の蛍光とを区別する方法を開発した。また、外部静磁場を印加することで、ダイヤモンドナノ粒子を微小な角度センサーとして利用する方法も開発している。

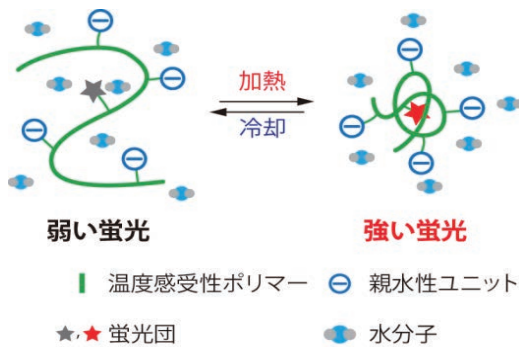


蛍光ダイヤモンドの概念像

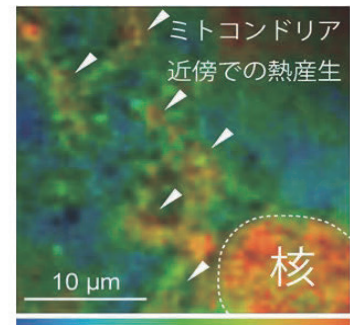
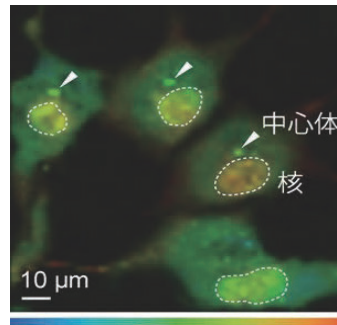


ダイヤモンド内の窒素-格子空孔中心の蛍光像

◆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が、体の中で熱を放出する主役である細胞の内部の温度については、ほとんど知られていなかった。そこで、我々は蛍光性ポリマー温度センサーや、ダイヤモンドナノ粒子、蛍光ナノ粒子、蛍光色素を用いた温度計測法を開発してきた。1 個の細胞内の温度計測を行った結果、細胞内部では、局所温度が時空間的に変動することを発見したことから、細胞機能を調整する「温度シグナリング」として機能している可能性が示唆された。温度生物学の発展を目指し、細胞内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ほか、例えば温熱療法の 1 細胞レベルでの評価といった、バイオメディカル分野への応用も共同研究として進めている。



蛍光性高分子温度センサー



細胞内温度イメージング像

代表的な文献

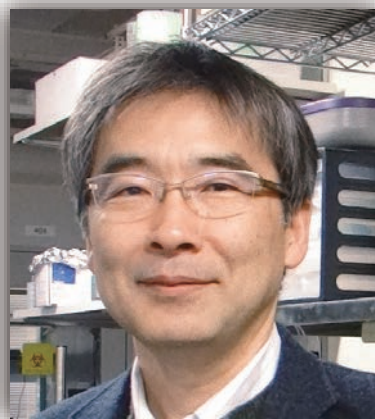
1. Multifunctional temozolomide-loaded lipid superparamagnetic nanovectors: Dual targeting and disintegration of glioblastoma spheroids by synergic chemotherapy and hyperthermia treatment. Marino, A. et al. *Nanoscale* **11**, 21227-21248 (2019).
2. Polydopamine coating as a scaffold for ring-opening chemistry to functionalize gold nanoparticles. Sotoma, S. and Harada, Y. *Langmuir* **35**, 8357-8362 (2019).
3. HCV IRES captures an actively translating 80S ribosome. Yokoyama, T. et al. *Mol. Cell* **74**(6), 1205-1214 (2019).
4. Bright dots and smart optical microscopy to probe intracellular events in single cells. Fujita, H. et al. *Front. Bioeng. Biotechnol.* **6**, 204 (2019).
5. 褐色脂肪細胞の温度変化をイメージングしたいのはなぜ？ 鈴木団、原田慶恵 *生物物理* **58**(2), 97-99 (2018).
6. Fluorescent nanodiamonds as a robust temperature sensor inside a single cell. Sekiguchi, T. et al. *Biphas. Physicobiol.* **15**, 229-234 (2018).
7. Construction of integrated gene logic-chip. Masubuchi, T. et al. *Nature Nanotech.* **13**(10), 933-340 (2018).
8. Enrichment of ODMR-active nitrogen-vacancy centres in five-nanometre-sized detonation-synthesized nanodiamonds: Nanoprobes for temperature, angle and position. Sotoma, S. et al. *Sci. Rep.* **8** (1), 5463-3802 (2018).
9. Ca^{2+} -associated triphasic pH changes in mitochondria during brown adipocyte activation. Hou, Y. et al. *Mol. Metabolism* **6**(8), 797-808 (2017).
10. Gold Nanoshell-Mediated Remote Myotube Activation. Marino, A. et al. *ACS Nano* **11**(3), 2494-2508 (2017).
11. A Beetle Flight Muscle Displays Leg Muscle Microstructure. Shimomura, T. et al. *Biophysical journal* **111**(6), 1295-1303 (2016).
12. Single-Molecule Analysis of the Target Cleavage Reaction by the Drosophila RNAi Enzyme Complex. Yao, C. et al. *Mol. Cell* **59**, 125-132 (2015).
13. Synergistic effect of ATP for RuvA-RuvB-Holliday junction DNA complex formation. Iwasa, T. et al. *Sci Rep.* **5**, 18177 (2015).
14. Real-time background-free selective imaging of fluorescent nanodiamonds in vivo. Igarashi, R. et al. *Nano Lett.* **12**, 5726-5732 (2012).
15. Intracellular temperature mapping with a fluorescent polymeric thermometer and fluorescence lifetime imaging microscopy. Okabe, K. et al. *Nat. Commun.* **3**, 705 (2012).

分子創製学研究室

高木 淳一 教授

takagi@protein.osaka-u.ac.jp

助 教 北郷 悠
特任助教 有森 貴夫



シグナル伝達機構の構造基盤解明とそれを活かした蛋白質創薬を目指す

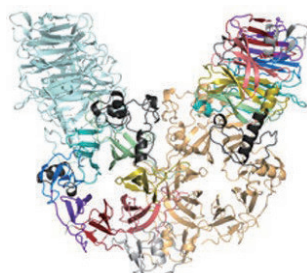
当研究グループでは、「生体膜」近傍での生物学的現象を蛋白質構造化学の目で切り取り、生物学研究の新たなステージを切り開くため、最新の構造生物学的手法を駆使した研究を行っている。細胞は外からの刺激を受容してその情報を細胞内で処理し、外的環境にたいしてどう対処するかを決定するが、ここで対象とするのは、ヒトの疾患に関わる種々の膜蛋白質、特に、脳・神経系で働く受容体やシナプス構成因子、神経細胞死や軸索ガイダンスに関わる分子、生物の発生や形態形成に関わるシグナル分子などの蛋白質である。レセプターが細胞外でその特異的パートナー(リガンド)と結合する際に起こる構造上の変化を「可視化」することが求められるが、そのために当研究室で用いる構造生物学的手法は X 線結晶構造解析と電子顕微鏡イメージングである。それらに用いるタンパク質試料の調製(発現と精製)や、巨大で不安定な複合体を結晶化する技術にはまだ改良の必要な点が数多くある。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

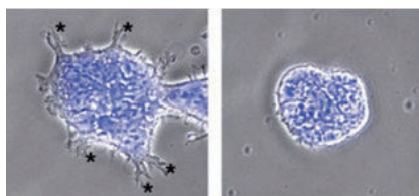
- 1) 細胞接着因子や神経系の分化・形態形成因子、及びそのレセプターの構造・機能解析
- 2) 構造情報を元にした新規蛋白質分子の創製
- 3) 「高難度」蛋白質の発現と精製、およびそのための独自のツール開発
- 4) 新しい原理に基づく蛋白質医薬の開発

研究トピックス

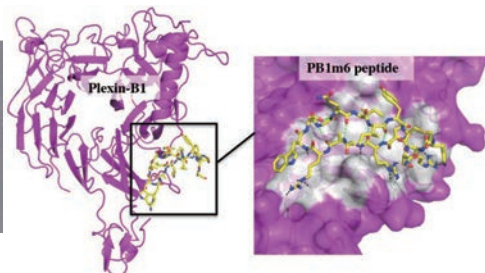
◆神経ガイダンス因子であるセマフォリンは、受容体プレキシシンに結合して細胞にシグナルを伝え、神経細胞のみならず免疫細胞、骨細胞、がん細胞などにおいて多様な生理作用をもつため、創薬ターゲットとして極めて注目されている。我々は 2010 年にセマフォリンとプレキシシンのシグナリング複合体の構造解析に世界で初めて成功し(文献 11)、その後も電子顕微鏡や X 線結晶構造解析の手法を用いてこのシグナリング系のメカニズム解明を目指してきた。タンパク質の構造解析だけでなく、その生理活性を評価する細胞アッセイ系を構築し、セマフォリンとプレキシシンの「構造—活性相関」を明らかにするとともに、医薬のリードとなり得る環状ペプチド阻害剤の発見なども達成している(文献 7)。



セマフォリン・プレキシシン複合体の結晶構造

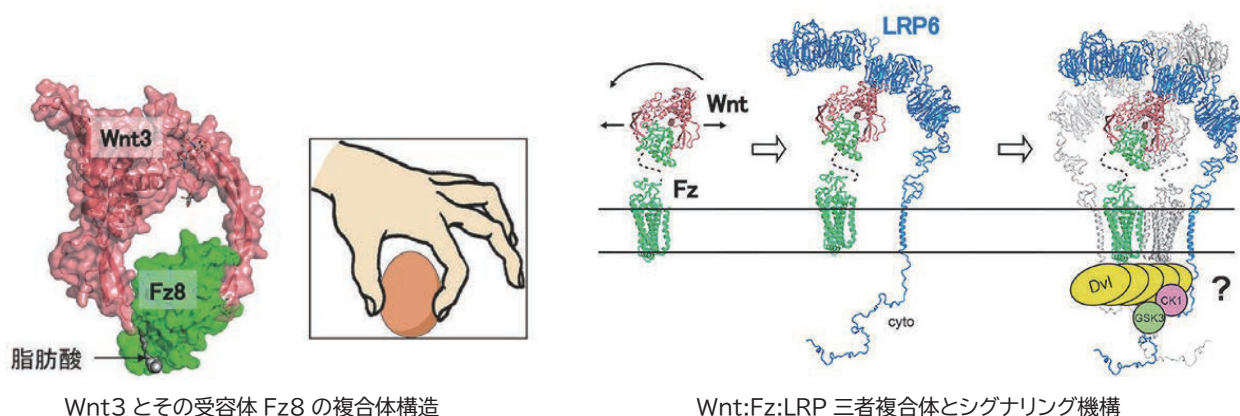


セマフォリン刺激前(左)と刺激後(右)の細胞の形態

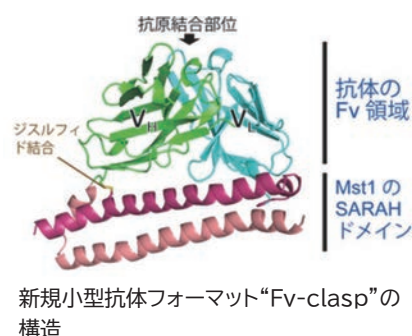


プレキシシン B1 のアロステリック阻害ペプチドの結合部位

◆ヒトを含むあらゆる多細胞生物の発生と組織形成に必須であるタンパク質 Wnt は、がんや骨粗鬆症を含む様々な疾患に関わっているが、その「水に溶けない」性質のために大量の組み換え発現や精製が難しく、これまでヒトや哺乳動物由来の Wnt については立体構造情報が得られていなかった。我々はまずこの Wnt 蛋白質を活性を保ったまま水溶性に変換するキャリアー蛋白質 afamin を発見し(文献 8)、これを利用してヒト Wnt3 の大量発現精製に成功するとともに、細胞上の受容体である Frizzled8(Fz8)の断片との複合体の形で結晶化し、原子分解能(2.9Å)での構造決定に成功した(文献 2)。Wnt の補助受容体である LRP6 の構造も電子顕微鏡を用いて解明し(文献5)、これらを組み合わせて細胞上での Wnt シグナル伝達機構のモデルを提唱するに至った。



◆近年、バイオ医薬品として注目されている抗体分子は、研究用のツールとしても様々な分野で応用され、用途によっては断片化して小さくした抗体(フラグメント抗体)が利用されることが多い。しかし従来のフラグメント抗体はいずれも生産性や安定性などに問題を抱えており、万能と呼べるものはこれまで存在しなかった。我々は立体構造に基づく蛋白質工学により、全く新しいフラグメント抗体のフォーマットを開発し、これを“Fv-clasp”と名付けた(文献6)。Fv-clasp は従来のフラグメント抗体が持つほとんどの欠点を克服した優れた性質を有しており、特に、非常に結晶になりやすい性質を有しているため、創薬ターゲット蛋白質など医学的・生物学的に重要な蛋白質の X 線結晶構造解析に、「結晶化シャペロン」として威力を発揮する。



代表的な文献

1. Macrocyclic peptide-based inhibition and imaging of hepatocyte growth factor. Sakai et al. (2019) *Nature Chem. Biol.*, **15**:598-606.
2. Crystal structure of mammalian Wnt-frizzled complex. Hirai et al. (2019) *Nature Struct. Mol. Biol.* **26**,372-379.
3. Structure and mechanism of cancer-associated N-acetylglucosaminyltransferase-V. Nagae et al. (2018) *Nature Commun.* **9**, 3380.
4. Semaphorin 6D reverse signaling controls macrophage lipid metabolism and anti-inflammatory polarization. Kang et al. (2018) *Nature Immunology*, **19**, 561-570.
5. Conformational freedom of the LRP6 ectodomain is regulated by N-glycosylation and the binding of the Wnt antagonist Dkk1. Matoba et al. (2017) *Cell Reports*, **18**:32-40.
6. Fv-clasp: An artificially designed small antibody fragment with improved production compatibility, stability, and crystallizability. Arimori et al. (2017) *Structure*, **25**:1611-1622.
7. Allosteric inhibition of a semaphorin 4D receptor plexinB1 by a high-affinity macrocyclic peptide. Matsunaga et al. (2016) *Cell Chem. Biol.* **23**:1341-1350.
8. 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.
9. Structural basis for amyloidogenic peptide recognition by sorLA. Kitago et al. (2015) *Nature Struct. Mol. Biol.* **22**, 199-206.
10. Crystal structure of $\alpha 5 \beta 1$ integrin ectodomain: Atomic details of the fibronectin receptor. Nagae et al. (2012) *J. Cell Biol.* **197**, 131-140.
11. Structural basis for semaphorin signaling through the plexin receptor. Nogi et al. (2010) *Nature* **467**, 1123-1127.

機能・発現プロテオミクス研究室

高尾 敏文 教授

tak@protein.osaka-u.ac.jp

助 教 武居 俊樹

特任助教 Wang Qiuyi



質量分析でタンパク質世界を探索

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い、質量分析により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ている。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・分析的手法や装置の開発、そして質量スペクトルを確度よく解析するためのソフトウェアの開発、整備を行っており、また、それらを用いて生理的に重要な微量蛋白質の同定や蛋白質翻訳後修飾の構造解析に取り組んでいる。

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) 生体試料のプロテオミクスとバイオマーカー探索法の開発
- 4) 質量分析におけるペプチド、糖鎖、脂質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

◆ 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(Δ^9 -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“パルミトレイル化”は Wnt ファミリーに共通する翻訳後修飾であり、この分野における新たな展開が期待される。

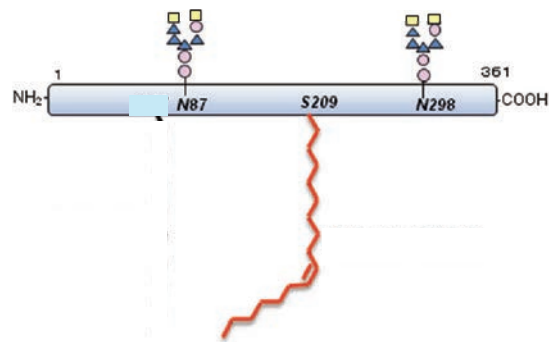


図 1 Wnt 蛋白質に見出された新規な脂質修飾(Dev. Cell 2006)と糖鎖修飾(J. Cell Sci. 2013, 2015)

◆蛋白質は生体内で様々な化学変化や修飾を受けている。 $\beta 2$ -ミクログロブリン($\beta 2M$)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 $\beta 2M$ のアミノ酸配列中に $\alpha \leftrightarrow \beta$ 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 $\beta 2M$ 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。

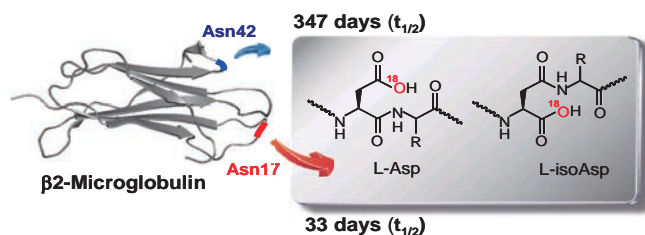


図2 安定同位体 ^{18}O 標識による $\beta 2$ -ミクログロブリンの脱アミド化及び異性化反応の検出 (Anal. Chem. 2012)

◆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、東京工業大学栄誉教授)との共同研究により、蛋白質 C 末端における新規な翻訳後修飾として、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。この修飾反応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。

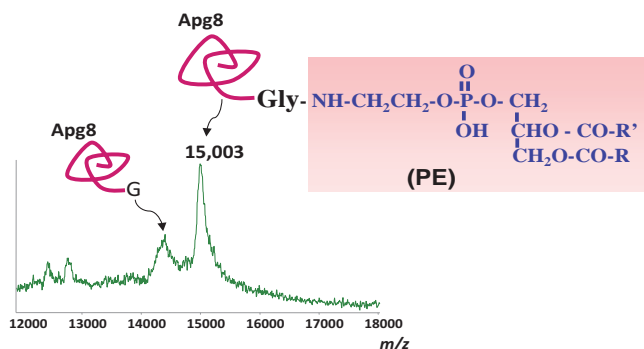


図3 蛋白質(Apg8)C 末端のフォスファチジルエタノールアミン(PE)による翻訳後修飾(Nature 2000)

代表的な文献

1. Metastable Decomposition at the Peptide C-Terminus. -Possible Use in Protein Identification-. Wang Y, Nakajima E, Okamura Y, Wang D, Okumura N, Takao T. (2020) *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **34**(9):e8734.
2. Lithium ion adduction enables UPLC-MS/MS based analysis of multi-class, 3-hydroxyl group containing keto-steroids. Wang Q, Shimizu K, Maehata K, Pan Y, Sakurai K, Hikida T, Fukada Y, Takao T. (2020) *Journal of Lipid Research*, **61**(4):570-579.
3. 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.
4. 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.
5. Quantitative Analysis of Deamidation and Isomerization in $\beta 2$ -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.



再構成アプローチで細胞内膜交通・小胞輸送の分子基盤を探る

本研究室は、ヒトをはじめ全ての真核細胞において普遍的な細胞内物質輸送の原理解明を研究トピックとし、独自に開発した再構成プロテオリポソーム実験系を軸に生化学・膜蛋白質化学研究を推進している。この真核細胞内の物質輸送は、多様な細胞小器官オルガネラ群・細胞質膜・分泌小胞を含む複雑な細胞内膜系のダイナミックな動き・変化によって担われており、細胞内膜交通・小胞輸送(メンブレントラフィック)と呼ばれる。ヒトを含む全ての真核細胞において、この細胞内膜交通・小胞輸送を駆動する細胞内膜動態は、時間的かつ空間的にも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、脂質二重膜と膜蛋白質を含む蛋白質因子群が協調的に働く、膜交通の分子基盤・分子機構を精確に理解する事は困難である。そこで、本研究室は、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蛋白質因子群を含む精製蛋白質を材料に、多様な細胞内膜動態を試験管内で再現する「再構成プロテオリポソーム解析系」を構築し、本質的な細胞内膜交通の動作原理の解明に挑戦している。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(繫留)・膜ドッキング・膜融合」に焦点を当てて研究を展開している。

研究課題

- 1) SNARE および Rab 蛋白質群により駆動される膜テザリング・膜融合反応の分子機構
- 2) SNARE および Rab 蛋白質群による膜テザリング・膜融合反応の新たな再構成実験系の技術開発

代表的な文献

1. Homotypic and heterotypic trans-assembly of human Rab-family small GTPases in reconstituted membrane tethering. Segawa K, Tamura N, Mima J (2019) *J Biol Chem* **294**, 7722-7739.
2. Reconstituted Proteoliposome Fusion Mediated by Yeast SNARE-Family Proteins. Mima J (2019) *Methods Mol Biol* **1860**, 303-322.
3. Reconstitution of membrane tethering mediated by Rab-family small GTPases. Mima J (2018) *Biophys Rev* **10**, 543-549.
4. Human Rab small GTPase- and class V myosin-mediated membrane tethering in a chemically defined reconstitution system. Inoshita M, Mima J (2017) *J Biol Chem* **292**, 18500-18517.
5. 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.
6. Membrane-anchored human Rab GTPases directly mediate membrane tethering in vitro. Tamura N, Mima J (2014) *Biol Open* **3**, 1108-1115.
7. Multiple and distinct strategies of yeast SNAREs to confer the specificity of membrane fusion. Furukawa N, Mima J (2014) *Sci Rep* **4**, 4277.
8. 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.



蛋白質構造生物学研究部門

- 機能構造計測学研究室
- 蛋白質結晶学研究室
- 電子線構造生物学研究室
- 超分子構造解析学研究室

機能構造計測学研究室

准教授 松木 陽
助教 江川 文子
助教 宗 正智
特任助教 杉木 俊彦
特任助教 原田 健一
特任助教 深澤 隼

藤原 敏道 教授
tfjwr@protein.osaka-u.ac.jp



相互作用する蛋白質の構造と機能を先端的な磁気共鳴法で解明する

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としている。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、アミロイド線維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、高感度な NMR 分光装置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

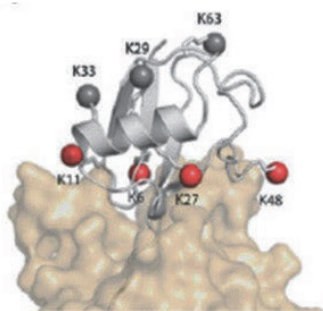
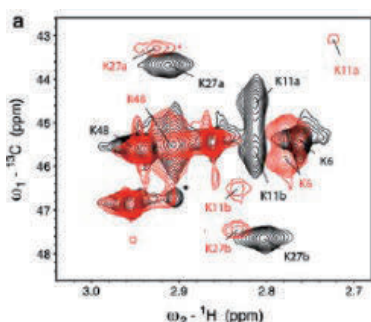
- 1) NMR に基づく蛋白質の構造, 相互作用, 機能の解析
- 2) テラヘルツ波を用いた NMR の超高感度化
- 3) 生体系解析のための NMR 実験法, 同位体標識試料調製法, データ解析法の開発

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、

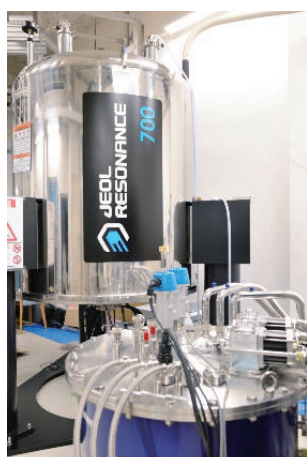
(1)試料調製, (2)NMR 実験, (3)スペクトル解析の各段階で進んだ方法を開発する必要がある。

(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 ^{19}F の導入などを行っている。



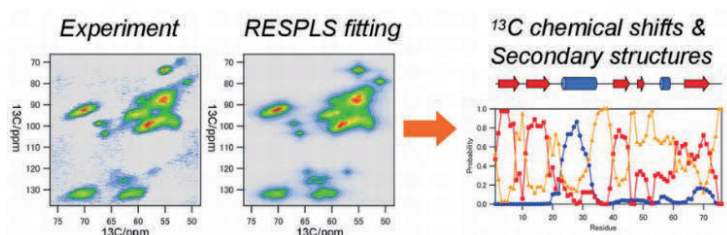
^1H - ^{13}C HSQC スペクトルと NMR が示す相互作用するユビキチン-蛋白質 YUH1。ユビキチンと YUH1 はそれぞれリボンと表面表示で示した (1CMX)。ユビキチンの蛋白質発現後標識したメチル基をボールで示し、大きな化学シフト摂動があるものを赤で表示した。この方法で蛋白質試料調製が困難な蛋白質でも NMR で相互作用解析ができるようにした。(文献 5)

(2)NMR で使う核スピンの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 20K 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 4)

(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 6)

代表的な文献

1. The route from the folded to the amyloid state: exploring the potential energy surface of a drug-like miniprotein, Taricska, N., Horváth, D., Menyhárd, D. K., Ákontz-Kiss, H., Noji, M., So, M., Goto, Y., Fujiwara, T. and Perczel, A. (2020) *Chemistry a European Journal*, **26**, 1968-1978.
2. Veratridine binding to a transmembrane helix of sodium channel Nav1.4 determined by solid-state NMR, Niitsu, A., Egawa, A., Ikeda, K., Tachibana, K., and Fujiwara, T. (2018) *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **26**, 5644-5653.
3. Mechanistic and structural basis of bioengineered bovine Cathelicidin-5 with optimized therapeutic activity, Sahoo, B., Maruyama, K., Edula, J., Tougan, T., Lin, Y., Lee, Y.-H., Horii, T., and Fujiwara, T., (2017) *Sci. Rep.*, **7**, 44781, 1-16.
4. 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.
5. Utilization of lysine ^{13}C -methylation NMR for protein-protein interaction studies. Hattori, Y., Furuita, K., Ohki, I., Ikegami, T., Fukada, H., Shirakawa, M., Fujiwara, T., Kojima, C. (2013) *J. Biomol. NMR*, **55**, 19-31.
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.

准教授 田中 秀明
特任准教授 Christoph Gerle
助教 川本 晃大

栗栖 源嗣 教授

gkurisu@protein.osaka-u.ac.jp



結晶学的手法で蛋白質の高精度解析を、 電子顕微鏡で超分子複合体の構造解析をおこなう

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生物化学の手法で精製し、立体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立体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、放射線損傷の少ない高精度・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、長らく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。ATP を加水分解するリングから長い脚(ストーク領域:黄色)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、微小管への親和性は長いコイルドコイル領域を介して調整されることが判っており、微小管との相互作用様式と情報伝達機構に興味をもたれています。我々は、ストーク領域単独の結晶構造を明らかにし、微小管との複合体構造や分子動力学計算の解析から、コイルドコイルを介した情報伝達モデル(オープンジッパーモデル)を提唱しています。



図1. ADP 結合状態のダイニンモータードメイン。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。

◆植物や藻類が行う光合成反応は、地球上の全ての生命体を支える重要な反応で、光エネルギーを使って発電する太陽電池のような反応です。発電に相当する反応は“電子伝達”と呼ばれ、チラコイド膜中の膜蛋白質と可溶性の電子伝達蛋白質が担っています。水から得られた電子はチラコイド膜の回路を伝って光化学系 I (PSI)と呼ばれる巨大な膜蛋白質に伝わり、最後の受け手である電子キャリア蛋白質(フェレドキシン)に電子をバトンパスすることで、様々な酵素に電力を供給しています。しかし、電子伝達は弱い力で駆動されるので、その詳細な仕組みは解明されていませんでした。我々は、人工的に再構成したフェレドキシンを使い、不安定な複合体の構造解析に成功しました。フェレドキシンを結合した時に PSI が玉突き式の構造変化を起こして対称な形を変化させながら効率良く電子を渡していることを突き止めました(図2)。引き続き、PSI と周辺蛋白質の複合体形成について、高分解能での構造解析を目指しています。

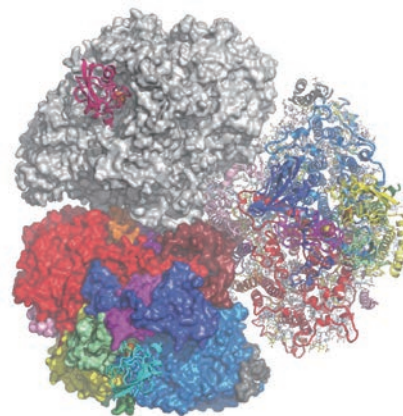


図2. 好熱性ラン藻 *T. elongatus* の光化学系 I 反応中心(PSI)と電子伝達蛋白質フェレドキシン(Fd)の複合体結晶構造。PSI の 3 量体をそれぞれ、リボンモデル、灰色の分子表面モデル、サブユニット毎に色分けした分子表面モデルで表示、結合している Fd は黄、赤、水色のリボンモデルで表示している。

代表的な文献

1. X-ray structure of an asymmetrical trimeric ferredoxin-photosystem I complex. Kubota-kawai, H., Mutoh, R., Shinmura, K., Sétif, P., Nowaczyk, M.M., Rögner, M, Ikegami, T., Tanaka, H and Kurisu, G. (2018) *Nature Plants*, **4**, 218-224.
2. Calredoxin represents a novel type of calcium-dependent sensor-responder connected to redox regulation in the chloroplast. Hochmal, A. K., Zinzus, K., Charoenwattanasatien, R., Gäbelein, P., Mutoh, R., Tanaka, H., Schulze, S., Liu, G., Scholz, M., Nordhues, A., Offenborn, J.N., Petroutsos, D., Finazzi, G., Fufezan, C., Huang, K., Kurisu, G. and Hippler, M. (2016) *Nature Commun.*, **7**, 11847.
3. 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.
4. The 2.8 Å crystal structure of the dynein motor domain. Kon, T., Oyama, T., Shimo-Kon, R., Imamura, K., Shima, T., Sutoh, K. and Kurisu, G. (2012) *Nature*, **484**, 345-350.
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. 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.
7. 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.

◆ CSD (Cambridge Structural Database) グループ

教授 栗栖 源嗣
准教授 田中 秀明



ケンブリッジ結晶構造データベース(Cambridge Structural Database:CSD)は1965年からデータを蓄積している有機分子や有機金属分子の結晶構造データベースです。CSDは英国CambridgeにあるThe Cambridge Crystallographic Data Centre (CCDC)がデータ登録・処理を単独で行っており、データベースは有料で利用することができます。大阪大学蛋白質研究所は、日本の代表加盟機関(National Affiliated Centre)として、1970年代の第1回リリースからデータ購入を担当し国内の利用に供してきました。蛋白質結晶学研究室が、アカデミックユーザー向けのライセンス管理とユーザーサポートを行っています。(http://www.protein.osaka-u.ac.jp/CSD/)

電子線構造生物学研究室

加藤 貴之 教授

tkato@protein.osaka-u.ac.jp

助 教 岸川 淳一

助 教 高崎 寛子



クライオ電子顕微鏡によりモーター蛋白質の構造と機能を解析する

蛋白質は我々ヒトを始めすべての生物において、あらゆる生命活動の根幹を担っています。蛋白質の機能は立体構造と密接に関係しており、立体構造が壊れるとその機能が失われてしまいます。また、蛋白質は常に構造変化や離合集散を繰り返しており、そのゆらぎの中で必要な機能を発揮するように設計されています。これは蛋白質の構造とそのゆらぎを知ることが機能メカニズムを知る近道であることを示しています。この蛋白質の構造解析を行う手法にクライオ電子顕微鏡があります。

クライオ電子顕微鏡は蛋白質の構造解析を行う技術として近年急速に発展を遂げており、構造生物学において必須の技術となりました。クライオ電子顕微鏡では溶液中での機能状態での分子の構造を解析することができ、病気発生のメカニズムや創薬のための、より価値の高い構造情報を得ることができます。

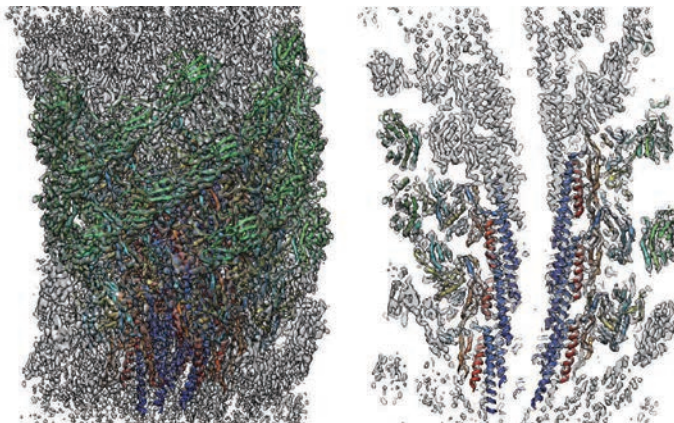
本研究室では分子モーターを中心に、クライオ電子顕微鏡によって蛋白質の構造解析によるメカニズムの解析と、より高分解能な解析が可能な技術開発及びタンパク質の熱ゆらぎの解析法の確立を進めています。

研究課題

- 1) 分子モーターの構造解析に基づく機能メカニズムの解析
- 2) クライオ電子顕微鏡における高分解能解析技術の開発
- 3) 蛋白質の熱ゆらぎ解析法の確立

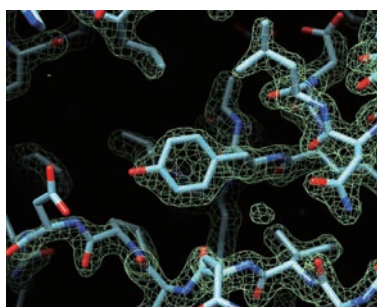
研究トピックス

◆クライオ電子顕微鏡による単粒子解析法は、試料の分子量に対する制限が緩く、機能状態での構造解析が可能です。そのため、他の方法では解析が難しかった超分子複合体の機能状態の構造解析を行っています。特にべん毛モーターやATPaseに代表される分子モーターは高エネルギー変換効率、コンパクトといった優れた特性を持っています。これらの優れたメカニズムを明らかにするためにクライオ電子顕微鏡による構造解析を行っています。

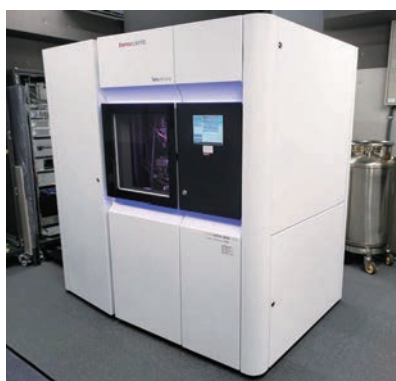


自然に曲がったべん毛フックの立体構造

◆近年のクライオ電子顕微鏡は高分解能での構造解析が可能です。すべての試料に対して必ず構造解析ができるとは限りませんし、解析できたとしても期待する分解能で解けるとは限りません。また、現在のクライオ電子顕微鏡のポテンシャルすべてを引き出しているかは現時点では実は誰にも分かりません。そのため膜蛋白質や小さな分子などクライオ電子顕微鏡では難しい試料がコンスタントに高分解能で解析できる技術を開発していきます。



分解能 1.9 Å で解析された
アポフェリチンの構造



スクリーニング用クライオ電子顕微鏡



高分解能構造解析用クライオ電子顕微鏡

◆クライオ電子顕微鏡は試料溶液を凍らせて分子像を撮影し、画像解析によって立体構造解析を行う手法です。その分子像の中には様々なコンフォーメーションを持っている分子が含まれています。この様々なコンフォーメーションを持つ分子像を正しく分類して連続に並べると、蛋白質が本来持つ熱ゆらぎを可視化することができます。蛋白質は厳密な設計に基づいて機能する人工の機械と違い、常にコンフォーメーションを変えながら機能を発揮しています。この蛋白質の熱ゆらぎを解析する手法を確立することで蛋白質の本質を明らかにします。

代表的な文献

1. Refined mechanism of *Mycoplasma mobile* gliding based on structure, ATPase activity, and sialic acid binding of machinery. Nishikawa, M.S., Nakane, D., Toyonaga, T., Kawamoto, A., Kato, T., Namba, K. & Miyata, M. (2019) *mBio*, **10**, e02846-19.
2. Structure of the native supercoiled flagellar hook as a universal joint. Kato, T., Makino, F., Miyata, T., Horváth, P. & Namba, K. (2019) *Nature Communications*, **10**, 5295.
3. Structure of *Salmonella* flagellar hook reveals intermolecular domain interactions for the universal joint function. Horváth, P., Kato, T., Miyata, T. & Namba, K. (2019) *Biomolecules*, **9**, 462.
4. CryoTEM with a cold emission gun that moves structural biology into a new stage. Kato, T., Makino, F., Nakane, T., Terahara, N., Kaneko, T., Shimizu, Y., Motoki, S., Ishikawa, I., Yonekura, K. & Namba, K. (2019) *Microsc. Microanal.*, **21**, Suppl 2, 998.
5. Novel insights into conformational rearrangements of the bacterial flagellar switch complex. Sakai, T., Miyata, T., Terahara, N., Mori, K., Inoue, Y., Morimoto, Y.V., Kato, T., Namba, K. & Minamino, T. (2019) *mBio*, **10**, e00079-19.
6. Architecture of a flagellar apparatus in the fast-swimming magnetotactic bacterium MO-1, Ruan, J., Kato, T., Santini, C.-L., Miyata, T., Kawamoto, A., Zhang, W.-J., Bernadac, A., Wu, L.-F. and Namba, K. (2012) *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **109**, 20643.
7. High-resolution structural analysis of a DNA nanostructure by cryoEM. Kato, T., Goodman, R.P., Erben, C.M., Turberfield, A.J. & Namba, K. (2009) *Nano lett.*, **9**(7), 2747.

超分子構造解析学研究室

中川 敦史 教授

atsushi@protein.osaka-u.ac.jp

准教授 鈴木 守

准教授(兼) 山下 栄樹



放射光やクライオ電子顕微鏡を利用して 蛋白質や生体超分子複合体の構造を解析する

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、全自動構造精密化パイプラインの開発など、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。

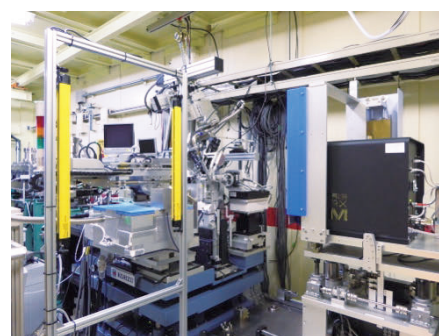
研究課題

- 1) 生体超分子複合体および蛋白質の構造解析
- 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) 全自動構造精密化パイプラインの開発

研究トピックス

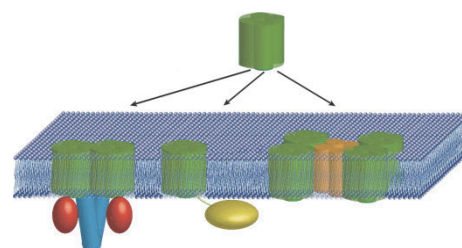
◆近年の蛋白質結晶学の飛躍的な進歩により、複雑な蛋白質の構造を短時間で決定することが可能となってきたが、解析が難航する場合も多く、解決しなければならない問題が数多く残っている。本研究室では、蛋白質結晶学のボトルネックを解決することを目指して研究を進めている。そのうちの一つとして、生体超分子複合体結晶の回折強度測定に最適した専用の放射光ビームライン(BL44XU)をSPRING-8に設置し、運営を行っている。このビームラインは、生体超分子複合体結晶の回折強度データを高精度に短時間で測定することを目標として設計しているが、通常の蛋白質結晶の超高分解能回折強度データ収集も簡単に行うことができる。放射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。

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。



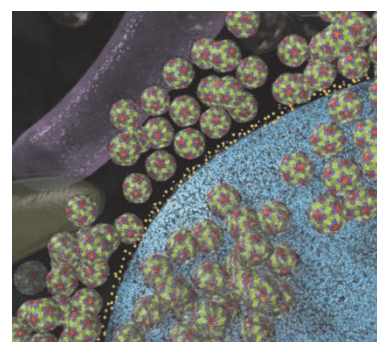
SPRING-8の蛋白研ビームライン BL44XU

◆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、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旨と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. An assembly intermediate structure of *Rice Dwarf Virus* reveals a hierarchical outer capsid shell assembly mechanism, Nakamichi Y., Miyazaki N., Tsutsumi K., Higashiura A., Narita H., Murata K., and Nakagawa A. (2019) *Structure*, **27**, 439-448.
2. Hierarchical structure assembly model of rice dwarf virus particle formation, Nakagawa, A., Miyazaki, N., Higashiura A. (2018) *Biophysical Reviews*, **10**, 659-665.
3. Structural basis for the assembly of the Ragulator-Rag GTPase complex, Yonehara, R., Nada, S., Nakai, T., Nakai, M., Kitamura, A., Ogawa, A., Nakatsumi, H., Nakayama, K. I., Li, S., Standley, D. M., Yamashita, E., Nakagawa, A., and Okada, M. (2017) *Nature Communications*, **8**, 1625.
4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. 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.





蛋白質高次機能学研究部門

- 分子発生学研究室
- ゲノム - 染色体機能研究室
- 高次脳機能学研究室
- オルガネラバイオロジー研究室

分子発生学研究室

古川 貴久 教授

takahisa.furukawa@protein.osaka-u.ac.jp

准教授 茶屋 太郎

特任助教 杉田 祐子



中枢神経系の発生を遺伝子から個体神経機能・ヒト疾患まで統合的に解明する

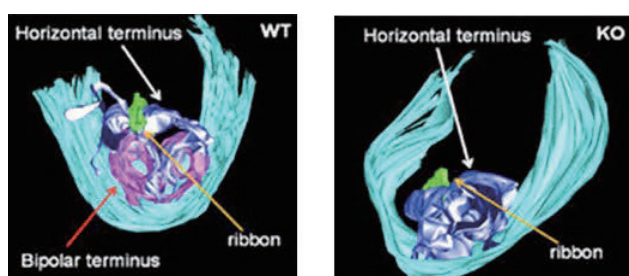
本研究室は、脊椎動物、特にほ乳類の中枢神経系発生の分子機構を分子生物学、生物学、生化学、細胞生物学、神経生理学など幅広い方法論により解明し、神経系の構築と機能発現の原理を生体(in vivo)レベルで解明することを目指しています。私たちの脳には一千億個を超える神経細胞が存在していますが、神経系では多様な細胞が正確に発生・分化するだけではなく、それらが正しく結合して回路を作らねばなりません。私たちのゲノム DNA に書かれた遺伝プログラムが、いかにして RNA や蛋白質として機能発現することによって神経細胞を正確に作り、正しい相手と結合して精密な神経回路を形成し、最終的に生体において神経生理機能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

研究課題

- 1) 網膜をモデルとした神経細胞分化の遺伝子発現調節機構
- 2) 網膜神経回路の形成を制御する蛋白質の解析
- 3) 網膜の神経変性のメカニズム解明と神経変性抑制法の開発
- 4) 中枢神経系における非コード RNA の機能解析
- 5) 繊毛 (cilia) の形成機構および繊毛病(ciliopathy)の発症メカニズム
- 6) 個体レベルにおける視覚機能の解析

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 70 種類も存在する。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 9)。

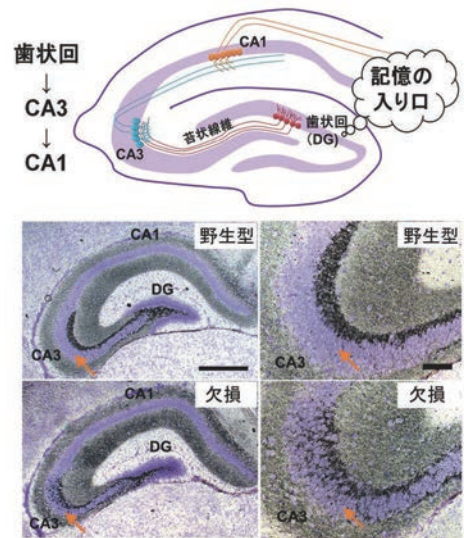


図：超高圧電子顕微鏡による三次元トモグラフィー解析
(大阪大学超高圧電子顕微鏡センターとの共同研究)
WT(野生型)の網膜視細胞の軸索末端には水平細胞(紫)と双極細胞(赤)の神経終末が進入してシナプスを形成しているが、ピカチュリン KO 網膜のリボンシナプスには双極細胞の神経終末が進入していない。

◆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7)。

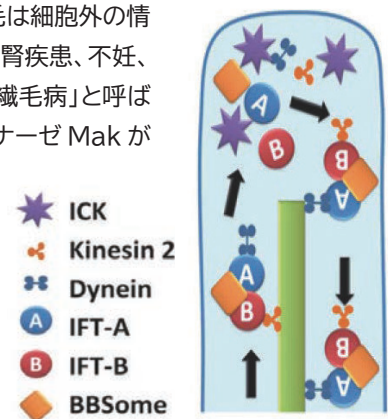
図:マイクロRNA-124a欠失による海馬の神経投射の異常

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8)。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5)。

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. Cul3-Klhl18 ubiquitin ligase modulates rod transducing translocation during light-dark adaptation. Chaya T. et al. (2019) *EMBO J.* **38**, e101409.
2. Lrit1, a Retinal Transmembrane Protein, Regulates Selective Synapse Formation in Cone Photoreceptor Cells and Visual Acuity. Ueno A. et al. (2018) *Cell Rep.* **22**, 3548–3561.
3. Samd7 is a cell type-specific PRC1 component essential for establishing retinal rod photoreceptor identity. Omori Y. et al. (2017) *Proc Natl Acad Sci USA.* **114**, E8264 - E8273.
4. 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.
5. 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.
6. Presynaptic Dystroglycan-Pikachurin Complex Regulates the Proper Synaptic Connection between Retinal Photoreceptor and Bipolar Cells. Omori et al. (2012) *J. Neurosci.* **2**, 6126-6137.
7. miR-124a is required for hippocampal axogenesis and retinal cone survival through Lhx2 suppression. Sanuki R et al. (2011) *Nature Neurosci.* **14**, 1125-1134.
8. 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.
9. Pikachurin, a dystroglycan ligand, is essential for photoreceptor ribbon synapse formation. Sato S et al. (2008) *Nature Neurosci.* **11**, 923-931.

ゲノムー染色体機能研究室

篠原 彰 教授

准教授 古郡 麻子

ashino@protein.osaka-u.ac.jp

助 教 伊藤 将

助 教 藤田 侑里香



ヒトなどのゲノム情報を安定に維持する仕組みの解明を目指す

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 DNA 複製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解析も実施している。

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。

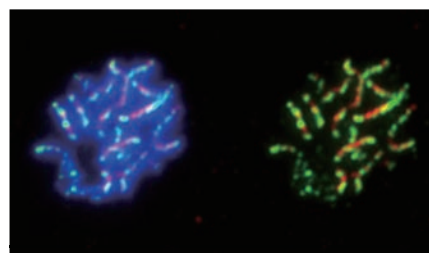
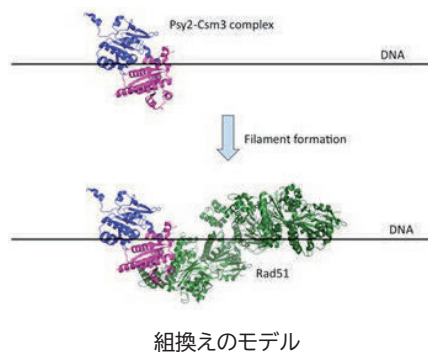
研究課題

- 1) 相同組換えに関与するタンパク質複合体の機能解明による分子メカニズムの解明の研究
- 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) 相同組換えや DNA 複製に関与するタンパク質の生化学、構造生物学的研究
- 5) ヒト細胞、マウス個体を用いた組換えと DNA 修復、減数分裂の組換え、染色体動態の研究

研究トピックス

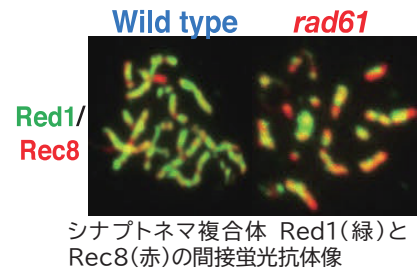
◆相同組換えの中でも鍵反応である、DNA 間の相同性を探す反応は一本鎖 DNA 上にタンパク質複合体が動的に集合解離反応を繰り返すことで担われている。この中心となるのが RecA ホモログ Rad51 による一本鎖 DNA 上での右巻きの螺旋フィラメント構造体の形成である。この Rad51 フィラメントは様々な正、負の因子によって制御される動的な構造体である。特に、この反応は家族性乳がんの原因となる Brca2 や Rad51 パラログによって促進されることが知られていることがわかっているが、その分子メカニズムは不明であった。これまで真核生物で初めて Rad51 が RecA ホモログであることを同定してから、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7)。

◆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に関して、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。その結果、減数第一分裂には切断に依存せずに、コヒーシンが染色体から除去される経路(prophase pathway)が存在することを明らかにした。この除去にはコヒーシン構成要素の減数分裂期特異的なリン酸化が関与している(文献3, 6)。

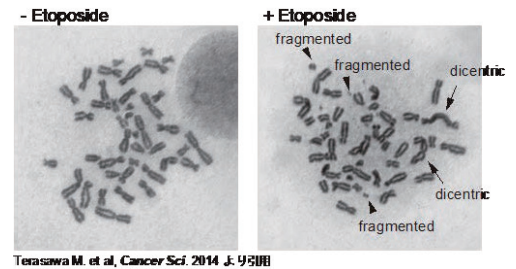


シナプトネマ複合体 Zip1(緑)と Rec8(赤)の間接蛍光抗体像

◆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、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に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 4, 7, 10)。



◆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。私たちは、ヒトの細胞やマウスを用いてゲノム不安定化を抑制する仕組みについて、特に、体細胞分裂期と減数分裂期の相同組換えの分子メカニズムに興味を持ち解析している。ヒト RAD51 の集合を助ける RAD51 パラログの1つ SWSAP1 に着目して解析したところ、この因子に相互作用する新規のアンチリコンビナーゼ FIGNL1 を同定した。FIGNL1 は RAD51 フィラメントを破壊する活性を持つが、この活性は SWSAP1 により制御を受けると言った RAD51 フィラメント形成の新規の制御メカニズムを明らかにした(文献 2)。また、相同組換えの初期に働くヒト RAD50-MRE11-NBS1 複合体の動きを原子間力顕微鏡で観察したところ、この複合体がコヒーシンのような動的性質を持つことを明らかにできた(文献 1)。これらの成果はヒトのゲノム不安定化の仕組みを理解する上で新規の知見を提供している。



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. Rad50 zinc hook functions as a constitutive dimerization module interchangeable with SMC hinge. Tatebe, H., Lim, C.T., Konno, H., Shiozaki, K., Shinohara, A., Uchihashi, T. and Furukohri, A. (2020) *Nature Commun.* **11**, 370.
2. Human RAD51 paralogue, SWSAP1, fosters RAD51 filament by regulating the anti-recombinase, FIGNL1 AAA+ ATPase. Matsuzaki, K., Kondo, S., Ishikawa, T., and A. Shinohara. (2019) *Nature Commun.* **10**, 1407.
3. Meiosis-specific prophase-like pathway controls cleavage-independent release of cohesin by Wapl phosphorylation. Challa, K., Fajish G.V., Shinohara, M., Klein, F., Susan M. Gasser, S.M., and A. Shinohara. (2019) *PLoS Genetics*, **15**, e1007851.
4. DNA damage response clamp loader Rad24(Rad17) and Mec1(ATR) kinase distinctly control meiotic crossover formation. Shinohara M., Bishop, D.K., and A. Shinohara. (2019) *Genetics*, **113**, 1255-1269.
5. Srs2 helicase prevents the formation of aberrant DNA damage during late prophase I of yeast meiosis. Sasanuma, H., Sabhan, H.M.S., Furihata, Y., Challa, K., Palmer, L. Gasser, S.M., Shinohara, M., and A. Shinohara. (2019) *Chromosoma*, **128**, 453-471.
6. Rad61/Wpl1 (Wapl), a cohesin regulator, controls chromosome compaction during meiosis. Challa, K.K., Lee, M.S., Shinohara, M., Kim, K.M and A. Shinohara. (2016) *Nucleic Acids Research*, **44**, 3190-3203.
7. 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**, 1494-1506.
8. 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.
9. *Saccharomyces cerevisiae* Srs2 helicase disassembles Rad51 from meiotic chromosomes. Sasanuma, H., Furihata Y., Shinohara, M. and Shinohara, A. (2013) *Genetics*, **194**, 859-872.
10. 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.
11. 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.

高次脳機能学研究室

正田 貴俊 教授

hikida@protein.osaka-u.ac.jp

助 教 小澤 貴明

助 教 Tom Macpherson



マウスを用いて脳機能と精神疾患にかかわる蛋白質を調べる

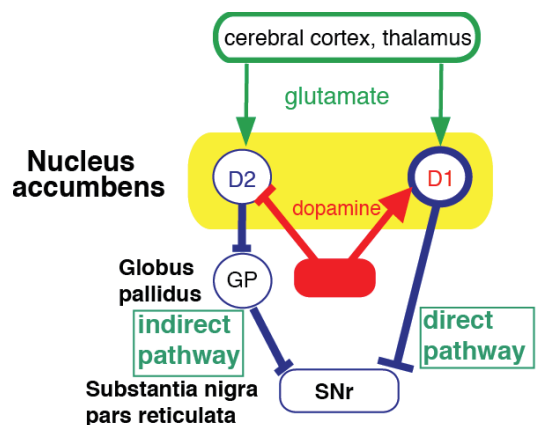
私たちの研究室では、独自に開発した神経回路活動制御法や特定神経回路の神経活動の可視化により、認知学習行動や意思決定行動といった高次脳機能の神経基盤の解明に取り組んでいます。また、精神神経疾患モデルマウスを用いて、精神神経疾患の分子病態の解析を行っています。特に精神疾患発症に関わる遺伝-環境相互作用の分子機構の解明に取り組んでいます。臨床部門や製薬企業との連携により、精神疾患の創薬を目指すトランスレーショナルリサーチをすすめていきます。

研究課題

- 1) 高次脳機能の神経回路機構の解析
- 2) 精神神経疾患の分子病態の解析
- 3) 精神疾患のトランスレーショナルリサーチ

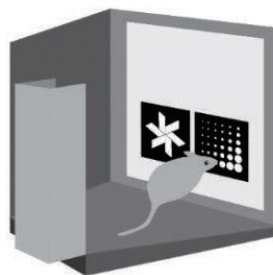
研究トピックス

◆大脳基底核は脳の中心に位置し、大脳皮質に覆われるとともに神経投射を受けている。大脳基底核-大脳皮質神経回路は運動制御のみならず、学習、認知、社会機能、精神機能と言った高次脳機能に必須である。大脳基底核神経回路は、線条体・側坐核から大脳基底核出力核である黒質網様部への投射回路には直接路と間接路の2つがあるが、その役割の違いは分かっていた。私たちは大脳基底核神経回路の直接路と間接路のそれぞれの神経細胞に特異的かつ可逆的に破傷風菌毒素を発現させることによって、神経伝達を制御できる可逆的神経伝達阻止法を開発した(Hikida et al., Neuron 2010)。本方法を用いて、直接路は報酬学習や薬物依存形成に、間接路は忌避学習に重要であることを示した(Hikida et al., Neuron 2010; Macpherson & Hikida, Front Neurosci 2018)。直接路と間接路の切り替えにはドーパミン入力の変化が関与しており、PKA/cAMP 細胞内情報伝達を介した回路特異的な可塑性変化が学習成立に必須であった(Hikida et al., PNAS 2013; Yamaguchi et al., PNAS 2015)。インテリケージを用いた集団飼育下における報酬学習課題においては、課題のゴールの変更による逆転課題において、間接路の情報伝達阻止を行ったマウスや間接路の情報伝達を担うドーパミン D2L 受容体のノックアウトマウスの成績が悪いことが分かった。これは前の課題のゴールに固執する行動柔軟性の欠如によることが分かり、動物の柔軟な行動には間接路のドーパミン情報伝達が重要であることを示した(Macpherson et al., Learn Mem 2016)。さらに、タッチスクリーン認知学習装置を用いた図形識別学習課題とその逆転学習課題において、D2L 受容体ノックアウトマウスは学習遅延があり、素早い認知学習には D2L 受容体が必須であることを示した(Morita et al., Mol Neuropsychiatry 2016)。



aversive learning

reward-based learning

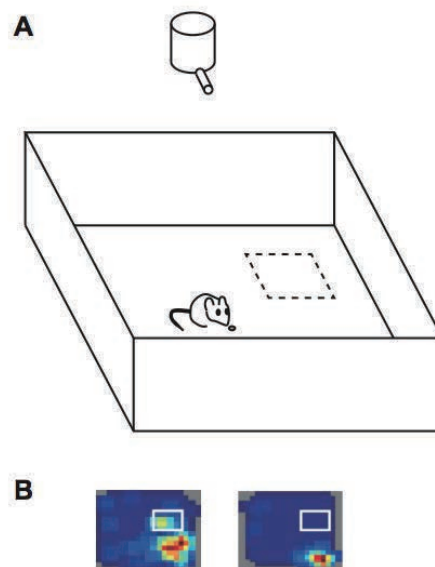


上図：大脳基底核神経回路

下図：マウスタッチスクリーン認知学習装置

◆精神疾病病態解明やトランスレーショナルリサーチのためにはモデル動物が必須である。私たちは、スコットランドの精神疾患多発家系から発見された変異型 DISC1 遺伝子を前脳の神経細胞に強制発現させたトランスジェニックマウスを作成し、精神疾患モデルマウスを確立した (Hikida et al., PNAS 2007; Niwa et al., Science 2013)。本モデルマウスは思春期の社会的孤立ストレスを加えることにより、行動異常や大脳皮質のドーパミンシグナル異常が出現し、遺伝因子と環境因子のくみあわせによる精神疾患発症のメカニズムを調べることができる良い動物モデルとなっている。私たちは本モデルマウスを用いて、精神疾患における高次機能障害の病態解明を目指している。

本モデルマウスの認知機能を、明示されていないゴールゾーンに滞在することによって報酬がもらえる場所学習課題により調べた(図 A)。変異型 DISC1 トランスジェニックマウスは思春期の社会的孤立ストレスの付加によって、場所学習に障害を示した。場所学習は、海馬 CA1 にある場所細胞が関与していることが知られている。そこで課題を行っている変異型 DISC1 トランスジェニックマウスの場所細胞の神経活動を慢性記録電極からの *in vivo* 電気生理記録により調べた。変異型 DISC1 トランスジェニックマウスの場所細胞の特性に変化はなかったが、野生型マウスでみられるゴールゾーンに一致した報酬関連活動(図 B 左)が変異型 DISC1 トランスジェニックマウスでは消失していた(図 B 右)(Hayashi et al., Neurosci Res 2016)。海馬内の神経回路機構の異常が示唆される(Kitanishi et al., JPS 2017)。



A: 場所学習課題装置。点線の明示されていないゴールゾーンに滞在すると、頭上から報酬が与えられる。

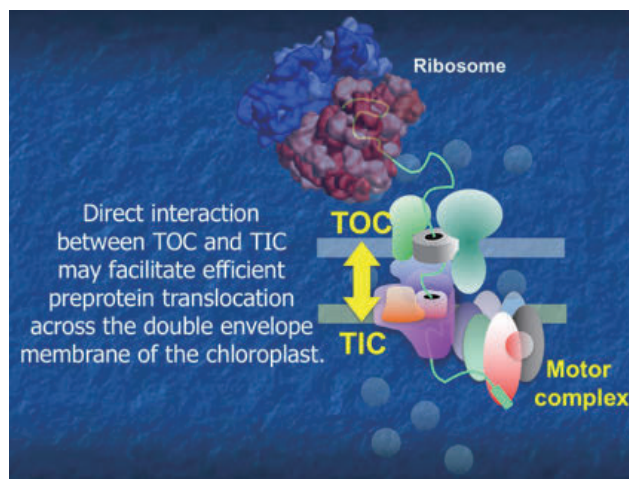
B: 海馬 CA1 神経活動。白線で囲まれた部位がゴールゾーンでの神経活動を示す(文献 2、5)。

代表的な文献

1. Nucleus accumbens dopamine D1-receptor-expressing neurons control the acquisition of sign-tracking to conditioned cues in mice. Macpherson & Hikida (2018) *Front. Neurosci.* **12**, 418.
2. Network mechanisms of hippocampal laterality, place coding and goal-directed navigation. Kitanishi et al. (2017) *J. Physiol. Sci.* **67**, 247-258.
3. Dopamine D2L receptor is required for visual discrimination and reversal learning. Morita et al. (2016) *Mol. Neuropsychiatry* **2**, 124-132.
4. Nucleus accumbens dopamine D2-receptor expressing neurons control behavioral flexibility in a place discrimination task in the IntelliCage. Macpherson et al. (2016) *Learn. Mem.* **23**, 359-364.
5. Impaired hippocampal activity at the goal zone on the place preference task in a DISC1 mouse model. Hayashi et al. (2016) *Neurosci. Res.* **106**, 70-73.
6. Role of PKA signaling in D2 receptor-expressing neurons in the core of the nucleus accumbens in aversive learning. Yamaguchi et al. (2015) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **112**, 11383-11388.
7. Adolescent stress-induced epigenetic control of dopaminergic neurons via glucocorticoids. Niwa et al. (2013) *Science* **339**, 335-339.
8. Pathway-specific modulation of nucleus accumbens in reward and aversive behavior via selective transmitter receptors. Hikida et al. (2013) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **110**, 342-347.
9. Distinct roles of synaptic transmission in direct and indirect striatal pathways to reward and aversive behavior. Hikida et al. (2010) *Neuron* **66**, 896-907.
10. Dominant-negative DISC1 transgenic mice display schizophrenia-associated phenotypes detected by measures translatable to humans. Hikida et al. (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **104**, 14501-14506.

植物や藻類の葉緑体形成に関与する巧妙な仕組みを解明する

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する論文をサイエンス誌に(文献1)、その続報となる新奇モーター複合体に関する論文を Plant Cell 誌に(文献2)発表し、これまでのモデルを大幅に書き換えることに成功し(文献 3-5)、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. Unconverging the Protein Translocon at the Chloroplast Inner Envelope Membrane. Kikuchi S, Bédard J, Hirano M, Hirabayashi Y, Oishi M, Imai M, Takase M, Ide T, Nakai M. (2013) *Science* **339**, 571-574.
2. A Ycf2-FtsHi Heteromeric AAA-ATPase Complex Is Required for Chloroplast Protein Import. Kikuchi S, Asakura Y, Imai M, Nakahira Y, Kotani Y, Hashiguchi Y, Nakai Y, Takafuji K, Bédard J, Hirabayashi-Ishioka Y, Mori H, Shiina T, Nakai M. (2018) *Plant Cell* **30**, 2677-2703.
3. New perspectives on Chloroplast Protein Import. Nakai M. (2018) *Plant Cell Physiol.* **59**, 1111-1119.
4. 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.
5. YCF1: A Green TIC. Nakai M. (2015) *Plant Cell* **27**, 1834-1838.



蛋白質ネットワーク 生物学研究部門

- 細胞システム研究室
- 計算生物学研究室
- 細胞核動態情報研究室
- 感染病態システム研究室
- 客員 PI 研究室

細胞システム研究室

岡田 眞里子 教授

mokada@protein.osaka-u.ac.jp

特任講師 田畑 祥
助 教 飯田 湊太
助 教 市川 彩花
特任助教 Ulrike Münzner



生命の基本単位、細胞を多様な分子の動的なシステムとして理解する

本研究室では、細胞の運命決定における分子間相互作用ネットワークの普遍的な制御構造や規則を明らかにし、これらの知見を人工的な細胞制御や疾患解明に活かすことを目指しています。そのために、がん、免疫、脳などにおける細胞システムを対象とし、実験解析、数理モデリングおよびバイオインフォマティクスを用いた情報解析との融合研究を行っています。環境と遺伝子をつなぐシグナル伝達から転写制御に注目し、細胞の運命の分かれ道における分子の協同的な働きやこれらの活性動態に潜むネットワーク制御をデータ駆動的に定量的に明らかにします。

研究課題

- 1) 転写因子のダイナミクスと遺伝子発現制御
- 2) 細胞制御におけるシグナル伝達系の数理モデリングとその応用
- 3) 疾病モデルにおけるマルチオミクス解析

研究トピックス

◆細胞内シグナル伝達系は細胞外の環境情報を核内の転写因子に伝える重要な役目があります。シグナル伝達系のネットワークでは、分子の活性化の程度そのものではなく、その活性化情報がどのように下流に伝わっていくのかという情報の流れが転写因子の活性化の有無を決定します。私たちはこれまで、数理モデルを用いて、がん細胞におけるシグナル伝達系キナーゼ ERK による cFos 転写因子活性化を、工学における論理回路と同じ仕組みを使って、ERK の量的な活性を cFos の0か1のスイッチ様活性に変換することを示しました (Nakakuki et al. Cell 2010)。また、免疫細胞における NF- κ B 転写因子の活性化においては、シグナル伝達系内の正のフィードバックループが、この転写因子のスイッチ様活性を一細胞レベルで決めること (Shinohara et al. Science 2014)、複数の NF- κ B 分子の DNA への協同的な結合が標的遺伝子の発現を量的に制御すること (Michida et al. Cell Rep. 2020) をデータ駆動的に明らかにしました。

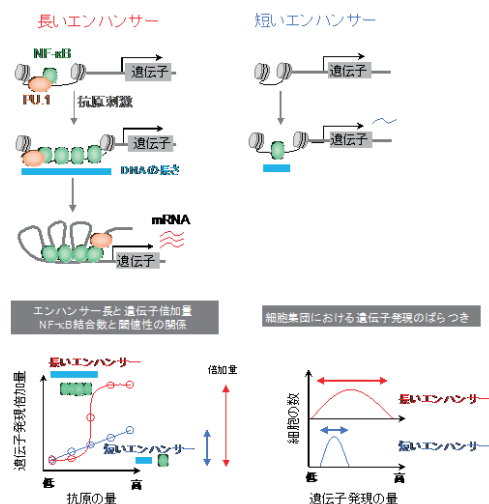


図 1. NF- κ B 転写因子によるスイッチ様の遺伝子発現誘導のためには NF- κ B が長い DNA 領域に多く結合することが必要である。

◆シグナル伝達経路の破綻は細胞のがん化に密接に関与しています。そのため、その特性の理解は、細胞のがん化の機序の解明や新規抗がん剤の開発に繋がることが期待されます。本研究室では、これまで、細胞制御に関わる数多くの高精度のシグナル伝達系の数理モデルを、実験データとシミュレーション解析を用いて、構築してきました。本研究室では、これらの知見と経験を踏まえ、がん発症に関わる細胞内の全シグナル伝達経路を統合した数理モデルの構築に取り組んでいます。これらの数理モデルと公共臨床データを組み合わせることにより、個々の疾患の機序解明に活かすことができると考えています。

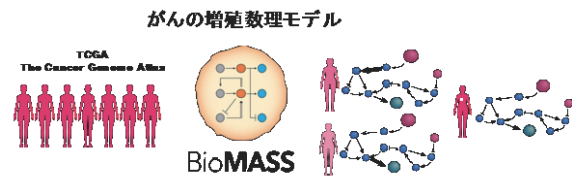


図 2. 細胞内のシグナル伝達系の数理モデル化と疾患解明

◆シグナル伝達系は蛋白質のリン酸化反応を中心とした生化学反応です。この情報は、転写反応、翻訳反応、代謝反応などの細胞内の異なる反応階層に伝えられ、細胞や個体の形質決定に関与します。私たちは、シグナル伝達系が個体の発生や機能維持にどのように関わっているのかを明らかにするために網羅的なトランスクリプトーム、エピゲノム、メタボローム、プロテオームなどのオミクス解析を行い、それらの情報学的な解析により、細胞形質決定のメカニズム解明を進めています。遺伝的疾患モデル、脳などを対象とした解析のほかに、複数の炎症性疾患に関する共同研究を行っています。

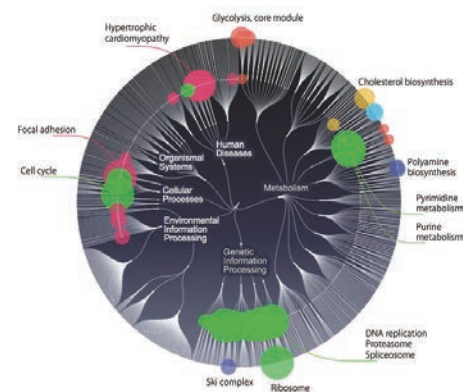


図 3. シグナル分子の欠損は、トランスクリプトームの顕著な変動を引き起こす。

代表的な文献

1. The number of transcription factors at an enhancer determines switch-like gene expression. Michida H, et al. (2020) *Cell Rep.* **31**(9):107724. doi: 10.1016/j.celrep.2020.107724.
2. Essential role of the Crk family-dosage in DiGeorge-like anomaly and metabolic homeostasis. Imamoto A, et al. (2020) *Life Sci Alliance.* **3**(2):e201900635. doi: 10.26508/lsa.201900635.
3. Inferring the transcriptional regulatory mechanism of signal-dependent gene expression via an integrative computational approach. Chiang S, et al. (2020) *FEBS Lett.* **594**(10):1477-1496. doi: 10.1002/1873-3468.13757.
4. Signal-dependent regulation of early-response genes and cell cycle: a quantitative view. Imoto H & Okada M. (2019) *Current Opinion in Systems Biology* **15**, 100-108 doi: 10.1016/j.coisb.2019.04.003.
5. Hunt for the tipping point during endocrine resistance process in breast cancer by dynamic network biomarkers. Liu R, et al. (2019) *J Mol Cell Biol.* **11**(8):649-664. doi: 10.1093/jmcb/mjy059.
6. Positive feedback within a kinase signaling complex functions as a switch mechanism for NF- κ B activation. Shinohara H, et al. (2014) *Science* **344**, 760-764. doi: 10.1126/science.1250020.
7. Ligand-specific c-Fos expression emerges from the spatiotemporal control of ErbB network dynamics. Nakakuki T, et al. (2010) *Cell* **141**, 884-896. doi: 10.1016/j.cell.2010.03.054.
8. Ligand-dependent responses of the ErbB signaling network: experimental and modeling analysis. Birtwistle MR, et al. (2007) *Mol. Syst. Biol.* **3**, 144. doi: http://10.1038/msb4100188.
9. 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. doi: 10.1074/jbc.M608653200.

計算生物学研究室

水口 賢司 教授

kenji@protein.osaka-u.ac.jp

准教授 橋本 浩介
助教 長尾 知生子



計算科学的手法を用いた生命現象の解明から創薬などへの応用へ挑む

本研究室では、計算科学的手法を用いて、疾患や生命現象の解明と創薬などへの応用を目指した研究を行なっている。コンピュータ解析に適した形に整理されたデータをどれだけ利用できるかが、人工知能開発の成否に大きな影響を与えるとの認識から、遺伝子、タンパク質を中心とする分子レベルのデータから、疾患、化合物などに至る幅広いデータの統合、データベース開発に力を入れている。また、タンパク質の構造、機能、相互作用などを予測する手法の開発と、具体的なデータ解析への応用も推進している。

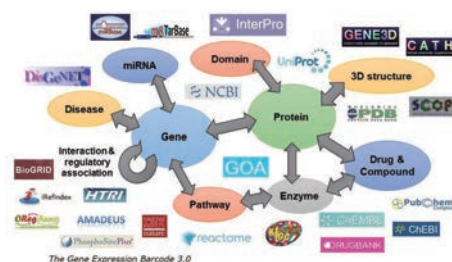
研究課題

- 1) 分子と高次の生命現象を繋げるためのデータ統合
- 2) 蛋白質を介する相互作用の理解・予測と生体反応のモデル化

研究トピックス

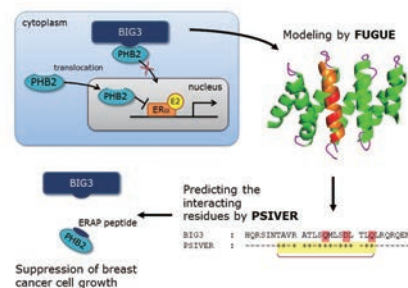
◆タンパク質科学、あるいは創薬研究の各段階に関連する実験データは、すでに公共データベースに多数格納されている。しかし、それらをビッグデータとして解析、活用するためには多くの課題を克服する必要がある。例えば、実験条件についての情報が十分に構造化されておらず、必要なデータの取捨選択が難しい、用語や単位が統一されていない、などは医療テキストや分子生物学データなど、他の幅広い研究領域においても共通して見られる問題と言える。

我々は、特に分子レベルと高次の生命現象を繋げるための基盤として、各種データベース構築や技術開発を行っている。薬物動態予測モデルの基盤となるデータを整備するため、幾つかの公共データソースから抽出したデータについて、実験条件の精査や単位の正確な変換などのマニュアルキュレーションを施した統合データベースを構築している。創薬初期の探索研究を支援する TargetMine データウェアハウス (<https://targetmine.mizuguchilab.org>) では、複数のデータベースから遺伝子と疾患・表現型、遺伝子と発現組織などの関係性に関わるデータを取得しているが、これらを統合して有効な解析ツールにするために、用語や概念の統一や解析ツールの開発を進めている。



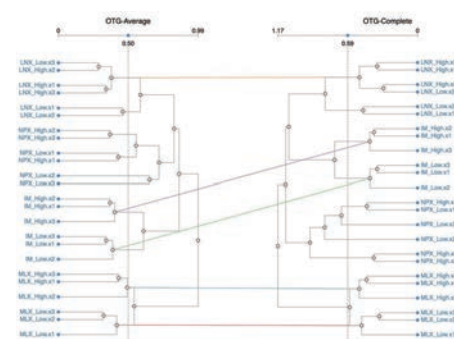
TargetMine で統合しているデータソース

◆実験的に決定されたタンパク質の配列、構造、相互作用などのデータが蓄積されており、それらの情報を基に、タンパク質のアミノ酸配列のみから構造、機能や相互作用を予測する研究を進めている。機械学習などの手法を用いた新規アルゴリズム開発と共に、具体的な系について実験検証可能な仮説の提唱を重視している。例えば、乳がん細胞で亢発現する新規遺伝子 BIG3 タンパク質中で、がん細胞の増殖に密接に関わる部位とその構造を予測した。予測された部位のアミノ酸残基に実験的に変異を導入すると、パートナータンパク質との結合が劇的に阻害されることが証明された。更に、予測部位に基づいて設計したペプチドは、相互作用を特異的に阻害し、乳癌細胞の増殖を抑制する新規の治療薬候補となることが *in vitro* と *in vivo* 実験で示された。このように、タンパク質間相互作用の予測は、生命現象の分子レベルでの理解の基礎となるのみならず、近年は新規の医薬品開発においても注目を集めており、その両面を志向した研究を進めている。



新規創薬に向けたタンパク質間相互作用の予測

◆十分な量と質のデータが利用可能でない状況では、機械学習など統計的モデリングの活用は難しいため、何らかの一般的な法則・規則に基づくモデリングが必要となる。我々は、物理化学的原理を用いた分子動力学シミュレーションとインフォマティクス解析を組み合わせたタンパク質機能メカニズムの解明や、細胞内でのシグナル伝達経路の数理モデルとケモインフォマティクス解析を組み合わせた生体応答の予測など、異種技術を組み合わせたモデリング研究を遂行している。また、結果解釈や各種解析を支援するための可視化ツールの開発も進めている。



クラスタリング結果比較の可視化ツール

代表的な文献

1. The TargetMine data warehouse: enhancement and updates. Chen Y-A, Tripathi LP, Fujiwara T, Kameyama T, Itoh MN, Mizuguchi K. (2019) *Front Genet.* **10**, 934.
2. Curation can Improve the Prediction Accuracy of Metabolic Intrinsic Clearance. Esaki T, Watanabe R, Kawashima H, Ohashi R, Natsume - Kitatani Y, Nagao C, Mizuguchi K. (2019) *Mol Inform.* **38**, 1800086.
3. Integrating sequence and gene expression information predicts genome-wide DNA-binding proteins and suggests a cooperative mechanism. Ahmad S, Prathipati P, Tripathi LP, Chen YA, Arya A, Murakami Y, Mizuguchi K. (2018) *Nucleic Acids Res.* **46**, 54-70.
4. A-kinase anchoring protein BIG3 coordinates oestrogen signalling in breast cancer cells. Yoshimaru T, Ono M, Bando Y, Chen YA, Mizuguchi K, Shima H, Komatsu M, Imoto I, Izumi K, Honda J, Miyoshi Y, Sasa M, Katagiri T. (2017) *Nat Commun.* **8**, 15427.
5. Network analysis and in silico prediction of protein-protein interactions with applications in drug discovery. Murakami Y, Tripathi LP, Prathipati P, Mizuguchi K. (2017) *Curr Opin Struct Biol.* **44**, 134-142.
6. Ligand-induced Ordering of the C-terminal Tail Primes STING for Phosphorylation by TBK1. Tsuchiya Y, Jounai N, Takeshita F, Ishii KJ, Mizuguchi K. (2016) *EBioMedicine* **9**, 87-96.
7. Applying the Naive Bayes classifier with kernel density estimation to the prediction of protein-protein interaction sites. Murakami Y, Mizuguchi K. (2010) *Bioinformatics* **26**, 1841-8.
8. FUGUE: sequence-structure homology recognition using environment- specific substitution tables and structure-dependent gap penalties. Shi J, Blundell TL, Mizuguchi K. (2001) *J Mol Biol.* **310**, 243-57.



2m ものゲノム DNA を収納し制御する驚異の微小空間・細胞核の謎に挑む

我々の一個体を構成する多種多様の体細胞は、いずれも受精卵に由来するほぼ同一のゲノム情報を持ちます。しかしそこに各細胞種独自のエピゲノム情報(DNA やクロマチン蛋白質の化学修飾、細胞核内でのクロマチン高次(三次元)構造(簡単に言うとクロマチンの折り畳まれ方)など)が加わることで各細胞ごとにゲノムの働き方が変化し、特有の形質が安定して生み出される結果、我々の生命が成り立っています。私たちの研究室では、このように生命に不可欠なエピゲノム情報の中でもまだ分からないことの多いクロマチン高次構造について、その真の実態を明らかにするための研究を行なっています。

従来、クロマチン高次構造は顕微鏡で細胞を一つ一つ観察して調べられ、同種の細胞でも1個ごとに異なる高次構造を持つことが知られていました。しかしこの方法ではクロマチン高次構造全体の「氷山の一角」しか調べることができませんでした。2009 年になると次世代シーケンス技術を用いてクロマチン高次構造を網羅的に捉える手法(Hi-C)が開発され、全ゲノムスケールで高次構造上の特徴が分かるようになりました。しかし Hi-C では数千万個の細胞を平均した高次構造は分かるものの、顕微鏡で見出されていた個々の細胞間の違いとの関係は分からないままでした。

このように、顕微鏡と Hi-C という相反する長所と短所を併せ持つ2つの手法で得られるクロマチン高次構造の知見を包括的に理解するため、私たちは一つ一つの細胞から Hi-C のデータを得ることのできる「1細胞 Hi-C」を 2013 年に世界に先駆けて開発しました。これにより、個々の細胞の持つクロマチン高次構造の違いを全ゲノムスケールで捉える道が開けました。更に私たちは1細胞 Hi-C のデータ品質や効率を改良し、数千個分の1細胞 Hi-C データを横断的に解析した結果、細胞周期が G1 期・S 期・G2 期と進行するに伴ってクロマチン高次構造に従来の Hi-C では捉えられなかった大規模で連続的な再構成が起きていることを見出し、2017 年に発表しました。

この結果は、「細胞集団の平均」として得られた既知のエピゲノムデータ中にも、クロマチン高次構造の絶え間ない動きに伴う未知の変化が隠れている可能性を示唆します。私たちはこの隠れたダイナミクスを調べるための新たな技術開発などを通じて、クロマチン高次構造の実態に更に迫るための研究を引き続き行なっています。

研究課題

- 1) 細胞核内におけるクロマチン・染色体のダイナミクスをより包括的かつ正確に捉える新技術の開発
- 2) 1 細胞解析技術を用いたクロマチン・染色体の高次構造やその制御実態の解明

代表的な文献

1. Collombet S, Ranisavljevic N, Nagano T, et al. Parental-to-embryo switch of chromosome organization in early embryogenesis. (2020) *Nature*. **580**: 142-146.
2. Nagano T, Lubling Y, Várnai C, et al. Cell-cycle dynamics of chromosomal organization at single-cell resolution. (2017) *Nature*. **547**: 61-67.
3. Nagano T, Lubling Y, Yaffe E, et al. Single-cell Hi-C for genome-wide detection of chromatin interactions that occur simultaneously in a single cell. (2015) *Nat Protoc*. **10**: 1986-2003.
4. Nagano T, Várnai C, Schoenfelder S, et al. Comparison of Hi-C results using in-solution versus in-nucleus ligation. (2015) *Genome Biol*. **16**: 175.
5. Nagano T, Lubling Y, Stevens TJ, et al. Single-cell Hi-C reveals cell-to-cell variability in chromosome structure. (2013) *Nature*. **502**: 59-64.

感染病態システム研究室

今井 由美子 特任教授

y-imai@protein.osaka-u.ac.jp

教授(兼)

岡田 眞里子



ウイルス感染に伴った宿主核内システムの応答、 重症病態の形成メカニズムを研究する

当研究室ではウイルス感染に対する宿主の応答、病態の形成をシステムとして理解することを目指しています。とりわけ、ウイルス感染に伴った宿主核内システムの応答、致死的重症病態の形成メカニズムに焦点を当てた研究を進めています。近年のゲノム解析技術、質量分析技術、情報解析技術などの進歩を背景に、感染症・免疫研究分野においても多階層の膨大な定量生命科学データを取得することが可能となってきました。当研究室では、国内外の研究グループと連携して、宿主エピゲノムプロファイリング、mRNA 翻訳プロファイリング、感染メタボローム解析、感染一細胞トランスクリプトーム解析、ヒトマイクロバイオーーム解析などの定量生命科学データを統合的に解釈して、ウイルス感染症の分子病態や重症化に関わるネットワークを解明し、マウスモデルでのゲノム合成やゲノム編集技術を応用して、これに基づいた創薬、診断法、先制医療の確立を目指した研究を行っています。

研究課題

- 1) ウイルス感染に対する染色体高次構造変化のダイナミクスと病原性発現機構の解明
- 2) ウイルス感染に対する宿主ならびにウイルス mRNA 翻訳機構の解明
- 3) 感染病態形成における免疫・神経間相互作用の解明
- 4) ウイルス感染の重症病態の形成を司る動的ネットワークの予測と先制治療への応用

代表的な文献

1. Minato T, Nirasawa S, Sato T, et al. B38-CAP is a bacteria-derived ACE2-like enzyme that suppresses hypertension and cardiac dysfunction. (2020) *Nature Communications*. **11**(1):1058.
2. Momota M, Lelliott P, Kubo A, et al. ZBP1 governs the inflammasome-independent IL-1 α and neutrophil inflammation that play a dual role in anti-influenza virus immunity. (2020) *Int Immunol*. **32**(3):203-212.
3. Fujiwara S, Hoshizaki M, Ichida Y, et al. Pulmonary phagocyte-derived NPY controls the pathology of severe influenza virus infection. (2019) *Nature Microbiology*. **4**(2):258-268.
4. Yamaguchi T, Suzuki T, Sato T, et al. The CCR4-NOT deadenylase complex controls Atg7-dependent cell death and heart function. (2018) *Sci Signal*. **6**:11(516).
5. Blank T, Detje CN, Spieß A, et al. Prinz M. Brain Endothelial- and Epithelial-Specific Interferon Receptor Chain 1 Drives Virus-Induced Sickness Behavior and Cognitive Impairment. (2016) *Immunity*. **44**(4):901-12.
6. Katahira J, Dimitrova L, Imai Y, et al. NTF2-like domain of Tap plays a critical role in cargo mRNA recognition and export. (2015) *Nucleic Acids Res*. **43**(3):1894-904.
7. Morita M, Kuba K, Ichikawa A, et al. The lipid mediator protectin D1 inhibits influenza virus replication and improves severe influenza. (2013) *Cell*. **153**(1):112-25.
8. Ichikawa A, Kuba K, Morita M, et al. CXCL10-CXCR3 enhances the development of neutrophil-mediated fulminant lung injury of viral and nonviral origin. (2013) *Am J Respir Crit Care Med*. **187**(1):65-77.
9. Neely G, Kuba K, Cammarato A, et al. A global in vivo Drosophila RNAi screen identifies NOT3 as a conserved regulator of heart function. (2010) *Cell*. **141**(1):142-153.
10. Imai Y, Kuba K, Neely GG, et al. Identification of oxidative stress and toll like receptor 4 signaling as a key pathway of acute lung injury. (2008) *Cell*. **133**(2):235-49.
11. Imai Y, Kuba K, Rao S, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 protects from severe acute lung failure. (2005) *Nature*. **436**(7047):112-6.
12. Kuba K, Imai Y, Rao S, et al. A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus-induced lung injury. (2005) *Nat Med*. **11**(8):875-9.

客員 PI 研究室

山崎 俊夫 招へい教授

toshio.yamazaki@riken.jp

核磁気共鳴(NMR)は水素核共鳴周波数 1GHz の壁を、高温超伝導材料を用いることで、超えることができた。高温超伝導材料は臨界磁場がとても高いので、従来材料での磁場上限の数倍の強い磁場を作る可能性をもっている。周波数が高くなることで、さらなる感度と分解能が期待できる。NMR 磁石の開発とともに、超高磁場磁石を生かす NMR 装置、NMR 測定技術の開発を進めることが必要になる。磁石開発と一緒に装置開発を進めている。磁場の均一化と安定化の強化、検出器の高度化が必要となる。感度分解能以外に、高磁場の特性を生かす研究がおもしろい。四極子核の line shape が磁場依存すること、分子運動による緩和が強くなるようになること、分子配向を利用して構造情報を取り出しやすくなるなど発展が期待できる。光をはじめとした分子構造制御法を組み合わせ、NMR 測定の多様化を図る。

研究課題

- 1) 超高磁場 NMR の開発と利用研究
- 2) 光同期 NMR によるタンパク質の構造変化の研究
- 3) 多様な状態の NMR 研究

代表的な文献

1. Nagashima, Toshio; Ueda, Keisuke; Nishimura, Chiaki; Yamazaki, Toshio, Anal. (2015) *Chem.* **87**, 11544-52.
2. Kenjiro Hashi, Kenzo Deguchi, Toshio Yamazaki, ..., and Tadashi Shimizu, (2016) *Chemistry Letters* **45**, 209-210.
3. Guzmán-Afonso C, Hong YL, Colaux H, Iijima H, Saitow A, Fukumura T, Aoyama Y, Motoki S, Oikawa T, Yamazaki T, Yonekura K, Nishiyama Y., (2019) *Nat Commun.* **10**, 3537.

竹田 哲也 招へい教員

ttakeda@okayama-u.ac.jp

生物の多様な細胞のカタチが生み出される仕組みを明らかにするために、生体膜の変形や切断を司る膜リモデリング分子に着目した研究を行っている。さらに、膜リモデリングの異常に起因する難治性疾患やがんなどの発症機序について、細胞生物学、生物物理学、構造生物学、モデル生物を用いた多角的なアプローチによる解明を試みている。

研究課題

- 1) ダイナミンおよび BAR ドメイン蛋白質による膜リモデリング機構の解明
- 2) ダイナミンおよび BAR ドメイン蛋白質の異常に起因する難治性疾患の発症機序解明
- 3) がん浸潤における膜リモデリングマシナリーの機能解明

代表的な文献

1. Takeda T, Kozai T, Yang H, Ishikuro D ..., and Takei K. (2018) *eLIFE* **7**, e30246.
2. Zhang Y, Nolan M, ..., and Takeda T. Biochem. Biophys. Res. (2016) *Commun.* **480**, 409-414.
3. Takeda T, Robinson I.M., Savoian, M.M. ..., and Glover D.M. (2013) *Open Biol.* **3**(8), 130081.
4. Takeda T., Kawate T. and Chang F. Nat. (2004) *Cell Biol.* **6**(11), 1142-1144.

鈴木 雄太 招へい教員

suzuki.yuta.2m@kyoto-u.ac.jp

化学者が「デザイナー」となって思いのままに、タンパク質の機能や構造をデザインしコントロールすることが可能となれば、「必要な時、必要な機能を自発的に発動するバイオナノロボット」が、医薬・バイオテクノロジー分野で活躍する時代もそう遠くないのかもしれませんが。しかしながら、現行のタンパク質デザインでは、複雑性・多様性を有するタンパク質を人工的に制御する緻密かつ煩雑な技術を必要とするにも関わらず、タンパク質集合体の構造を構築するに留まっています。そこで、私が目標とするのは、タンパク質の特徴を無理矢理制御するのではなく、個々のタンパク質の本来持つ利点を最大限利用する新しい「タンパク質デザイン」を確立し、将来的に「バイオナノロボット」の創成を目指した研究を推進していきます。

研究課題

- 1) タンパク質デザインによる機能性バイオマテリアルの作製および解析

代表的な文献

1. Alberstein, R.; Suzuki, Y.; Paesani, F.; Tezcan, F. A. (2018) *Nature Chemistry* **10**, 732 – 739.
Highlighted in Materials Today, Space Daily, and etc.
2. Suzuki, Y.; Cardone, G.; Restrepo, D.; Zavattieri, P. D.; Baker, T. S.; Tezcan, F. A. (2016) *Nature* **533**, 369 – 373.
Highlighted in C&EN, Chemistry world, ScienceDaily, Daily Mail, and Materials Today, and etc.



蛋白質次世代構造 解析センター

- プロテインデータバンク研究室
- 高磁場 NMR 分光学研究室
- 高輝度放射光結晶解析研究室
- 高分解能クライオ電子顕微鏡研究室
- 生体分子解析研究室
- 産学・国際連携研究室

附属蛋白質次世代構造解析センター

Research Center for Next-Generation Protein Sciences

附属蛋白質次世代構造解析センターは、共同利用・共同研究拠点としての諸機能をさらに強化すると共に、国際連携及び産業創生のための研究を一層推進するための組織として 2020 年 10 月に設立されました。

構造生物学の分野では、クライオ電子顕微鏡法、X線結晶解析法、NMR 分光法のハードウェア・ソフトウェアの性能向上が著しく、巨大な蛋白質複合体であっても詳細な原子構造や相互作用の情報を短時間で解析することが可能となりました。これら構造生物学の進歩とともに、得られた情報を迅速に有用な形で提供するデータベース（Protein Data Bank: PDB）が質・量ともに飛躍的に向上し、その情報基盤としての重要性が強く認識される状況となっています。また、蛋白質個々の静的で詳細な立体構造だけでなく生体内で働いている状態に近い動的な構造情報も重要になってきており、従来からの構造解析手法に留まらず、複数の解析手法を組み合わせ有益な構造情報を得る相関構造解析（Integrated/Hybrid Method）の推進も不可欠です。

このような研究背景から、本センターは蛋白質研究所本体からの兼任教員を含めた体制によって、様々な構造解析手法の高度化、相関構造解析の推進、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、などを通して次世代の構造生物学研究を担う技術開発を行います。それにより、内外の蛋白質科学研究コミュニティのハブとなる役割を果たすことが期待されています。



プロテインデータベース研究室



生体分子解析研究室



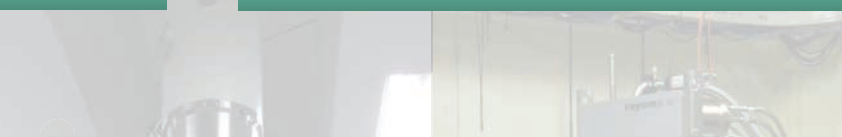
高磁場 NMR 分光学研究室



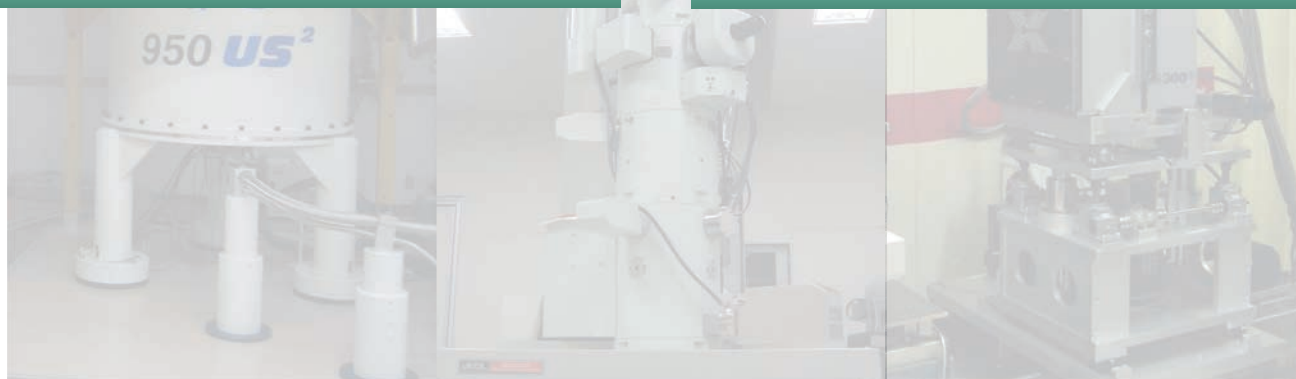
高輝度放射光結晶解析研究室



高分解能クライオ電子顕微鏡研究室

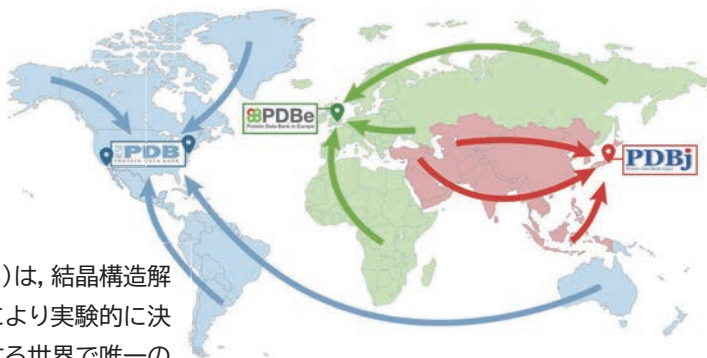


産学・国際連携研究室



◆PDBj (Protein Data Bank Japan)

教授(兼) 栗栖 源嗣
 教授(兼) 藤原 敏道
 特任准教授 川端 猛
 特任助教 Gert-Jan Bekker



蛋白質構造データベース(Protein Data Bank : PDB)は、結晶構造解析、NMR 分光法、電子顕微鏡構造解析のどれかの手法により実験的に決定した生体高分子の 3 次元構造を原子座標の形で保存する世界で唯一のデータベースです。日米欧の世界 4 拠点が worldwide Protein Data Bank (wwPDB)という組織をつくり、共同で登録・維持・管理を行なっています。現在では、結晶回折実験のデータを PDB に付随して保存し、NMR の実験データは Biological Magnetic Resonance Data Bank (BMRB, <https://bmrbdep.pdbj.org/>)として、電子顕微鏡マップのデータは Electron Microscopy Data Bank (EMDB, <https://pdbj.org/emnavi/>)として一括して保存・管理しています。

PDBj (Protein Data Bank Japan: <https://pdbj.org>) は、wwPDB の設立メンバーであり、2000 年に活動を開始しました。wwPDB は、PDBj の他に RCSB PDB(米国)、PDBe(欧州)、NMR の実験データを統括する BMRB(米国)の 4 拠点で構成されています。PDBj はアジア・中東地区で構造解析された生体高分子の全構造データの処理・登録を地域分担しており、大阪大学から PDB, BMRB, EMDB の 3 つのデータベースを全世界に無料で公開しています。さらに、生体系 NMR 研究者に活用していただけるツールや、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、毎月特定の蛋白質分子にフォーカスをあてて構造と機能を紹介する「今月の分子(<https://numon.pdbj.org/mom/>)」などのコンテンツを web 上で公開しています。

その他に、電子顕微鏡画像のデータベース EMPIAR のブローカーサイト(<https://empiar.pdbj.org>)や、生物学構造モデルのアーカイブ(BSM-Arc, <https://bsma.pdbj.org>)などの新しい活動もおこなっています。



<https://pdbj.org>



<https://bmrbdep.pdbj.org>

代表的な文献

1. New tools and functions in data-out activities at Protein Data Bank Japan (PDBj). Kinjo AR, Bekker G-J, Wako H, Endo S, Tsuchiya Y, Sato H, Nishi H, Kinoshita K, Suzuki H, Kawabata T, Yokochi M, Iwata T, Kobayashi N, Fujiwara T, Kurisu G, Nakamura H. (2018) *Protein Sci.* **27**, 95-102.
2. Protein Data Bank Japan (PDBj): updated user interfaces, resource description framework, analysis tools for large structures. Kinjo AR, Bekker G-J, Suzuki H, Tsuchiya Y, Kawabata T, Ikegawa Y, Nakamura H, (2017) *Nucl. Acids Res.* **45**, D282-D288.
3. Publication of nuclear magnetic resonance experimental data with semantic web technology and the application thereof to biomedical research of proteins. Yokochi M, Kobayashi N, Ulrich EL, Kinjo AR, Iwata T, Ioannidis YE, Livny M, Markley JL, Nakamura H, Kojima C, Fujiwara T, (2016) *J. Biomed. Semantics* **7**, 16.
4. 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. Kobayashi N, Harano Y, Tochio N, Nakatani E, Kigawa T, Yokoyama S, Mading S, Ulrich EL, Markley JL, Akutsu H, Fujiwara T. (2012) *J. Biomol. NMR* **53**, 311-320.

高磁場 NMR 分光学研究室

宮ノ入 洋平 准教授

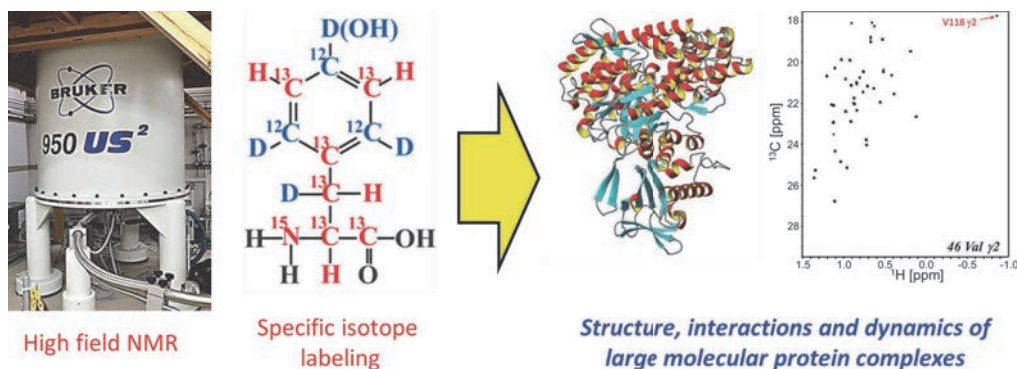
y-miyanoiri@protein.osaka-u.ac.jp

特任助教(兼) 杉木 俊彦



新しい溶液 NMR 法を開発し、蛋白質の動的構造を解明する

本研究室は、950 MHz 核磁気共鳴(nuclear magnetic resonance; NMR)装置をはじめとする高磁場 NMR 装置群と、独自の安定同位体標識技術を駆使して、高分子量蛋白質の動態構造を解析する手法を開発しています。溶液 NMR 法は、蛋白質の動的な構造情報を原子分解能で解析することができますが、対象となる蛋白質の分子量が増大すると、NMR 信号の低感度化や縮重が顕著となるため、詳細な立体構造を解析することは非常に困難となります。この”分子量の壁”を打破すべく、私たちは高度な安定同位体標識技術を開発してきました。独自の技術である立体整列同位体標識 (Stereo-array isotope labelling; SAIL) 法を改良することにより、分子量 80-1000 kDa の高分子量蛋白質および蛋白質複合体についても、NMR 信号を高感度に観測し、新たな立体構造解析手法を確立してきました(図)。今後、SAIL 法と高磁場 NMR 測定法を組み合わせ、膜蛋白質等の高分子量蛋白質複合体について動態構造を明らかにすることを目指します。



研究課題

- 1) 溶液 NMR 法による高分子量蛋白質、蛋白質複合体の動態構造解析法の開発
- 2) 新しい安定同位体標識手法の開発
- 3) 分子間相互作用に伴う蛋白質の動態変化の解析

代表的な文献

1. Recent Developments in Isotope-aided NMR Methods for Supramolecular Protein Complexes -SAIL Aromatic TROSY. Miyanoiri Y, Takeda M, Terauchi T, Kainosho M (2019) *BBA Gen Subj*, **1864**(2), 129439.
2. Aromatic Ring Dynamics, Thermal Activation, and Transient Conformations of a 468 kDa Enzyme by Specific 1H-13C Labeling and Fast Magic-Angle Spinning NMR. Gauto DF, Macek P, Barducci A, Fraga H, Hessel A, Terauchi T, Gajan D, Miyanoiri Y, Boisbouvier J, Lichtenecker R, Kainosho M, Schanda P. (2019) *J Am Chem Soc*. **141**(28), 11183-11195.
3. Evolution and diversification of the plant gibberellin receptor GID1. Yoshida H, Tanimoto E, Hirai T, Miyanoiri Y, Mitani R, Kawamura M, Takeda M, Takehara S, Hirano K, Kainosho M, Akagi T, Matsuoka M, Ueguchi-Tanaka M (2018) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **115**(33), E7844-E7853.
4. Perspective: next generation isotope-aided methods for protein NMR spectroscopy. Kainosho M, Miyanoiri Y, Terauchi T, Takeda M (2018) *J. Biomol. NMR*, **71**(3), 119-127.
5. Structural and functional analysis of the C-terminal region of FliG, an essential motor component of Vibrio Na⁺-driven flagella. Miyanoiri Y, Hijikata A, Nishino Y, Gohara M, Onoue Y, Kojima S, Kojima C, Shirai T, Kainosho M, Homma M (2017) *Structure*, **25**, 1540-48.
6. Highly efficient residue-selective labeling with isotope-labeled Ile, Leu, and Val using a new auxotrophic *E. coli* strain. Miyanoiri Y, Ishida Y, Takeda M, Terauchi T, Inouye M, Kainosho M (2016) *J. Biomol. NMR*, **65**, 109-19.
7. Myosin VI undergoes cargo-mediated dimerization. Yu C, Feng W, Wei Z, Miyanoiri Y, Wen W, Zhao Y, Zhang M (2009) *Cell*, **138**, 537-48.

高輝度放射光結晶解析研究室

山下 栄樹 准教授

eiki@protein.osaka-u.ac.jp

教授(兼)

中川 敦史

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



最先端の光を使って蛋白質の構造を正確に決める方法を開発する

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



研究課題

- 1) 放射光を利用した高精度X線回折強度データ収集システムの開発
- 2) 生体超分子複合体の構造解析

代表的な文献

1. SPRING-8 BL44XU, a synchrotron radiation beamline for biological macromolecular assemblies, operated by the Institute for Protein Research, Osaka University. Yamashita E, Nakagawa A (2019) *Biophysical Reviews*, **11**, 521-523.
2. Structures of the wild-type MexAB-OprM tripartite pump reveal its complex formation and drug efflux mechanism. Tsutsumi K, Yonehara R, Ishizaka-Ikeda E, Miyazaki N, Maeda S, Iwasaki K, Nakagawa A, Yamashita E (2019) *Nature Communications*, **10**, 1520.
3. SPRING-8 BL44XU, beamline designed for structure analysis of large biological macromolecular assemblies. Higashiura A, Yamashita E, Yoshimura M, Hasegawa K, Furukawa Y, Kumasaka T, Ueno G, Yamamoto M, Tsukihara T (2016) *AIP Conference Proceedings*, **1741**, 030028.
4. A high-resolution structure of pre-microRNA nuclear export machinery. Okada C, Yamashita E, Lee SJ, Shibata S, Katahira J, Nakagawa A, Yoneda Y, Tsukihara T (2009) *Science*, **326**, 1275-1279.

高分解能クライオ電子顕微鏡研究室

加藤 貴之 教授(兼)

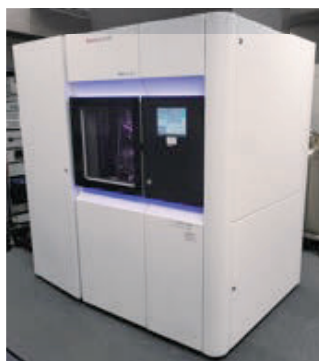
tkato@protein.osaka-u.ac.jp



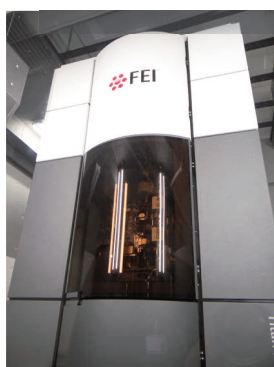
クライオ電子顕微鏡により生体分子の立体構造解析を支援する

世界的にもトップレベルの仕様にある透過型電子顕微鏡群を使い、単粒子解析法を主として、従来の手法では解けなかった生体分子の構造解析を目指します。当該施設は 3 台のクライオ電子顕微鏡と1台の汎用型透過型電子顕微鏡を有します。主力の 300kV クライオ電子顕微鏡 Titan Krios は、電子直接検出カメラ Falcon3 に加えて、エネルギーフィルターとともに取り付けられた最新のカメラ K3 Summit、そして、国内の生物用電子顕微鏡では唯一の球面収差補正装置(Cs コレクター)、低分子解析の要となるボルタ位相板を備えています。1 日 6,000 枚の自動画像取得が可能のため、構造多形の解析にも期待されています。創薬に貢献できるハイクオリティのデータ取得支援と撮影技術の開発に挑んでいます。

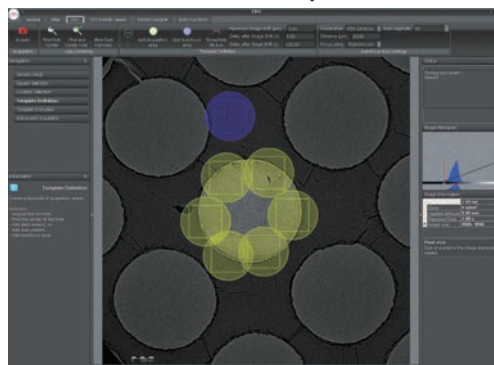
Talos Arctica



Titan Krios



Automatic Data Acquisition



研究課題

- 1) 世界トップレベルのクライオ電子顕微鏡を使った創薬のための技術開発
- 2) 小分子構造解析のための技術開発
- 3) 構造多形の解析

代表的な文献

1. Structural and Functional Comparison of Salmonella Flagellar Filaments Composed of FljB and FliC. T. Yamaguchi, S. Toma, N. Terahara, T. Miyata, M. Ashihara, T. Minamino, K. Namba, T. Kato. (2020) *Biomolecules*, **10**(2),246.
2. Structure of native supercoiled flagellar hook as a universal joint. T. Kato, F. Makino, T. Miyata, P. Horvath, K. Namba. (2019) *Nat. Comm.*, **10**(1), 5295.
3. Structure of Salmonella flagellar hook reveals intermolecular domain interactions for the universal joint function. P. Horvath, T. Kato, T. Miyata, K. Namba, (2019) *Biomolecules*, **9**(9),462.
4. CryoTEM with a cold emission gun that moves structural biology into a new stage. T. Kato, F. Makino, T. Nakane, N. Terahara, T. Kaneko, Y. Shimizu, S. Motoki, I. Ishikawa, K. Yonekura, K. Namba. (2019) *Microsc. Microanal.*, **25**, 998-999.
5. 生命を解き明かすクライオ電子顕微鏡法の新時代 最新クライオ電子顕微鏡 CRYOARM の開発、加藤貴之、難波啓一 (2018) *顕微鏡*, **53**(1), 13-17.
6. クライオ電子顕微鏡法の技術開発と生命科学への貢献、難波啓一、加藤貴之 (2018) *日本電子 news*, **50**(1), 2-7.
7. Technoical Development of Electron Cryomicroscopy and Contributions to Life Sciences. (2018) *JEOL NEWS*, **50**(1), 2-7.
8. 2017 年ノーベル科学賞 クライオ電子顕微鏡の開発、加藤貴之、難波啓一 (2017) *現代科学*, **12**, 40-44.



N 末端シーケンスや HPLC などにより蛋白質解析を支援する

本研究室は、プロテインシーケンサー、汎用質量分析装置などを用いたタンパク質の化学構造解析の支援ならびに研究、開発を行う。そのために、これらの装置をはじめ、HPLC、DNA シーケンサーなどの共通機器の管理運営を行うとともに、これらを用いたタンパク質研究の技術的支援を行う。プロテインシーケンサーを用いたタンパク質の N 末端配列分析に関しては、研究所内外からの依頼に応じて受託解析として行う。さらに、これらを通じてタンパク質の一次構造に基づく解析法の高度化を目指した技術開発を行う。

研究課題

- 1) プロテインシーケンサーを用いたタンパク質 N 末端配列解析による研究支援と技術開発
- 2) 質量分析装置、HPLC、蛍光 DNA シーケンサー等を用いた研究支援と技術開発



代表的な文献

1. The zinc form of carnosine dipeptidase 2 (CN2) has dipeptidase activity but its substrate specificity is different from that of the manganese form. Okumura N. and Takao T. (2017) *BBRC* **494**, 484-490.
2. 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 Science* **25**, 511-522.
3. Carnosine dipeptidase II. Okumura N. (2013) in *Handbook of proteolytic enzymes*, 3rd ed., pp. 1596-1600, Elsevier.
4. Diversity in protein profiles of individual calcium oxalate kidney stones. Okumura N, et al. (2013) *PLoS One* **8**, e68624.
5. Identification of cargo proteins specific for importin-beta with importin-alpha applying a stable isotope labeling by amino acids in cell culture (SILAC)-based in vitro transport system. Kimura M, et al. (2013) *J. Biol. Chem.* **288**, 24540-24549.



共同研究を通して、産業創生や国際連携を加速する

個別化医療を目指し、各種バイオマーカーの開発が進んでいるが、疾患との関係を十分に説明できるものは少ない。本研究では新規バイオマーカーの探索と、その分子構造の詳細解析を通じた、生体中での発生メカニズムの解明を目指す。

私はこれまで化学業界にて、蛋白質の多様な機能の産業応用を目指してきた。バイオ医薬品開発では、ホルモンと膜受容体の複雑な相互作用の解析、膜蛋白質センサー開発では、膜蛋白質の安定化や配向制御技術の構築、酵素プロセス開発では、トンスケールの化学反応において酵素を安定に機能させる技術構築、等に取り組んできた。技術的課題は解決できても、事業上の環境変化やコストの問題で開発を断念したテーマも多いが、幸運にも試験管レベルから市販に至るテーマも経験できた。

基礎研究の産業応用には、個々の技術の高度化だけでなく、社会環境やコストと時間も含めた様々な課題を俯瞰して解決策を練ることが重要であり、多様な専門家との分野横断的な連携作業が必要となる。その緊密な連携の決め手となるのは、サイエンスとしての面白さにかかっていると考えている。更にそのサイエンスの面白さを、社会や顧客に正しく伝えられるようなテーマが、コストの壁や既存技術との競争を制する鍵になると考えられる。知的好奇心が人を動かすのはどの分野にも共通している。

今回、蛋白質研究の分野横断的な連携において長い歴史を持つ当研究所にて、サイエンスを深掘りする貴重な機会をいただいた。本研究所の高度な蛋白質解析技術の力を借りながら、新規バイオマーカーの探索のみならず、該分子の疾患における役割を解明したいと考えている。

研究課題

- 1) 質量分析による新規バイオマーカーの探索
- 2) 免疫化学的分析による高速定量技術の開発
- 3) バイオマーカーの分子構造解析と生体中での生成メカニズムの解明

代表的な文献

1. Self-assembled photosystem-I biophotovoltaics on nanostructured TiO₂ and ZnO. Mershin, A., Matsumoto, K, Kaiser, L., Yu, D., Vaughn, M., Nazeeruddin, M. D. K., Bruce, B. D., Graetzel, M., Zhang, S. (2012) *Scientific Reports* **2**, 234, 1-7.
2. Enhanced Electron Transfer Activity of Photosystem I by Polycations in Aqueous Solution. Matsumoto, K., Zhang, S., Koutsopoulos, S. (2010) *Biomacromolecules* **11**, 3152-3157.
3. Designer peptides surfactants stabilize functional Photosystem-I membrane complex in aqueous solution. Matsumoto, K., Vaughn, M.; Bruce, B. D., Koutsopoulos, S., Zhang, S. (2009) *J. Phys. Chem. B* **113**, 75-83.
4. Cellular activities of 20K- and 22K-hGH do not necessarily correlate with their binding affinities for rat GH receptor. Ikeda, M. Matsumoto, K., Uchida, H., Naito, N., Tsunekawa, B., Wada, M., Honjo, M. (2000) *Hormone Research*, **54**, 136-142.



寄附研究部門

◆ マトリクソーム科学（ニッピ）寄附研究部門

マトリクス科学(ニッピ)寄附研究部門

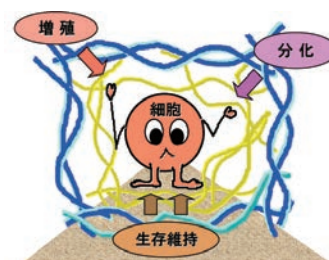
関口 清俊 寄附研究部門教授
sekiguch@protein.osaka-u.ac.jp

寄附研究部門助教 谿口 征雅



細胞外マトリクスを通して見えてくる細胞社会の恒常性維持の分子機構を探る

動物細胞の周囲に形成される細胞外マトリ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。



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

図1:細胞外マトリ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クスの組成は、細胞ごとにカスタマイズされている。

代表的な文献

1. Laminin is the ECM niche for trophoblast stem cells. Kiyozumi D, Nakano I, Sato-Nishiuchi R, Tanaka S, Sekiguchi K (2020) *Life Sci. Alliance* **3**, e201900515.
2. Bipartite mechanism for laminin-integrin interactions: Identification of the integrin-binding site in LG domains of the laminin α chain. Taniguchi Y, Takizawa M, Li S, Sekiguchi K (2020) *Matrix Biol.* **87**, 66-76.
3. Molecular profiling of the basement membrane of pluripotent epiblast cells in post-implantation stage mouse embryos. Futaki S, Nakano I, Kawasaki M, Sanzen N, Sekiguchi K (2019) *Regen. Ther.* **12**, 55-65.
4. Ventricular-subventricular zone fractones are speckled basement membranes that function as a neural stem cell niche. Sato Y, Kiyozumi D, Futaki S, Nakano I, Shimono C, Kaneko N, Ikawa M, Okabe M, Sawamoto K, Sekiguchi K (2019) *Mol. Biol. Cell* **30**, 56-68.
5. Recombinant laminin fragments endowed with collagen-binding activity: a tool for conferring laminin-like cell-adhesive activity to collagen matrices. Sato-Nishiuchi R, Li S, Ebisu F, Sekiguchi K (2018) *Matrix Biol.* **65**, 75-90.
6. Mechanistic basis for the recognition of laminin-511 by $\alpha 6 \beta 1$ integrin. Takizawa M, Arimori T, Taniguchi Y, Kitago Y, Yamashita E, Takagi J, Sekiguchi K (2017) *Sci. Adv.* **3**, e1701497.
7. Polydom is an extracellular matrix protein involved in lymphatic vessel remodeling. Morooka N, Futaki S, Sato-Nishiuchi R, Nishino M, Totani Y, Shimono C, Nakano I, Nakajima H, Mochizuki N, Sekiguchi K (2017) *Circ. Res.* **120**, 1276-1288.



技術部

技術専門職員	川上 恵子	(高木研	Tel:(内)8608)	keiko@protein.osaka-u.ac.jp
	小佐田 高史	(水口研	Tel:(内)9286)	takasi@protein.osaka-u.ac.jp
	山下 鈴子	(DB研	Tel:(内)4311)	r-yama@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
特例嘱託技術職員	乗岡 尚子	(栗栖研	Tel:(内)8605)	naoko@protein.osaka-u.ac.jp

活動内容

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
 2019 年度従事登録者 100 名(内RI実験室利用者 30、外部施設利用者 39)

③ 計算機システム、X 線結晶構造解析装置(小佐田)

2019 年度 CPU サーバ利用実績:所内 13 人、他大学 2 人、その他 1 人。

④ プロテインデータバンク研究室 [PDBj](山下)

PDB/EMDB Archive の維持・管理 (wwPDB 3 拠点との同期)
 毎週水曜日 9 時の公開データ・サービスの確認
 週次更新システムの構築・管理
 XML validation の実施 / XML schema の更新確認
 アクセス数・ダウンロード数の集計

⑤ 生体分子解析研究室(乗岡、川上)

分子解析室共同利用機器の整備(質量分析計、DNA シークエンサー、HPLC、濃縮遠心機等)
 2019 年度 N 末端アミノ酸配列受託分析実績
 ABI Procise 49cLC
 学内(所内、工学部、微研:総計 7 サンプル)
 学外(静岡大、関西大、富山大、愛媛大、日本大、新潟大、名古屋大:総計 20 サンプル)
 島津 PPSQgradient
 所内のみ 総計 58 サンプル

⑥ 所属研究室での業務



蛋白研について

- 大阪大学蛋白質研究所の歴史／歴代所長・名誉教授
- 共同利用・共同研究拠点
- 研究活動
- 教育活動
- 教職員／運営協議会委員
- 構成員／決算データ
- 建物配置図



大阪大学蛋白質研究所の歴史

大阪大学蛋白質研究所は、1958 年 4 月 1 日に全国共同利用研究所として発足し、赤堀四郎教授が初代所長に任命されました。

その後、年譜に記載の発展を経て、わが国における蛋白質研究の中核として学術研究に貢献するための一層の努力を続けています。

1950s

- 1956 年 (昭和31年) 理学部に「たんぱく質研究施設」設置
- 1958 年 (昭和33年) 全国共同利用「たんぱく質研究所」設置
運営協議会発足

1960s

- 1961 年 (昭和36年) 旧中之島キャンパスに本館(4,130㎡)竣工
- 1962 年 (昭和37年) ペプチドセンター設置
- 1965 年 (昭和40年) 鳥井記念館内に分室 (569㎡) を設置

1970s

- 1971 年 (昭和46年) 現在の吹田キャンパスに本館 (7,873㎡)
及び機械棟 (644㎡) 竣工
- 1972 年 (昭和47年) 日本初の蛋白質結晶構造 (カツオ・チトクロムc) の決定
- 1978 年 (昭和53年) 結晶解析研究センター設置
- 1979 年 (昭和54年) 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

1980s

- 1988 年 (昭和63年) 蛋白質工学基礎研究センター設置

1990s

- 1998 年 (平成10年) 生体分子解析研究センター設置

2000s

- 2000 年 (平成12年) 日本蛋白質データバンク(PDBj)発足
- 2002 年 (平成14年) プロテオミクス総合研究センター設置
- 2004 年 (平成16年) 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
- 2008 年 (平成20年) 共同研究拠点棟 (1,149 ㎡) 竣工
- 2009 年 (平成21年) 本館耐震改修工事実施

2010s

- 2010 年 (平成22年) 蛋白質研究共同利用・共同研究拠点に認定
- 2012 年 (平成24年) 蛋白質解析先端研究センター設置
- 2016 年 (平成28年) 蛋白質研究共同利用・共同研究拠点の継続認定

2020s

- 2020 年 (令和 2年) 蛋白質の3次構造モデルが化学遺産に認定
- 蛋白質次世代構造解析センター設置



歴代所長

初代	赤堀 四郎	1958年4月1日	-	1961年11月30日
2 代	伊勢村 寿三	1961年12月1日	-	1965年11月30日
3 代	鈴木 友二	1965年12月1日	-	1969年8月14日
4 代	成田 耕造	1969年8月15日	-	1971年8月14日
5 代	角戸 正夫	1971年8月15日	-	1982年4月1日
6 代	泉 美治	1982年4月2日	-	1985年3月31日
7 代	佐藤 了	1985年4月1日	-	1987年3月31日
8 代	堀尾 武一	1987年4月1日	-	1989年3月31日
9 代	勝部 幸輝	1989年4月1日	-	1993年3月31日
10代	中川 八郎	1993年4月1日	-	1995年3月31日
11代	崎山 文夫	1995年4月1日	-	1997年3月31日
12代	京極 好正	1997年4月1日	-	1999年3月31日
13代	下西 康嗣	1999年4月1日	-	2000年3月31日
14代	永井 克也	2000年4月1日	-	2004年3月31日
15代	阿久津 秀雄	2004年4月1日	-	2006年3月31日
16代	月原 富武	2006年4月1日	-	2008年3月31日
17代	相本 三郎	2008年4月1日	-	2010年3月31日
18代	長谷 俊治	2010年4月1日	-	2014年3月31日
19代	中村 春木	2014年4月1日	-	2018年3月31日
20代	中川 敦史	2018年4月1日		現在



名誉教授

浅野 朗	高木 俊夫	永井 克也	阿久津 秀雄	月原 富武	相本 三郎
関口 清俊	田嶋 正二	長谷 俊治	吉川 和明	中村 春木	後藤 祐児



共同利用・共同研究拠点

蛋白質研究における共同利用・共同研究拠点として、「大型設備利用」、「研究資料提供」、「人材育成を含んだ共同研究」の3つの柱を推進し、関連コミュニティの活性化を図っています。
このために以下の7事業を公募し、実施しています。

- (1) 共同研究員
- (2) 国際共同研究
- (3) 生体超分子複合体構造解析ビームライン共同利用研究課題
- (4) 超高磁場 NMR 共同利用研究課題
- (5) クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題
- (6) 蛋白質研究所セミナー
- (7) 客員フェロー



共同利用・共同研究拠点ホームページ
<http://www.protein.osaka-u.ac.jp/joint/>

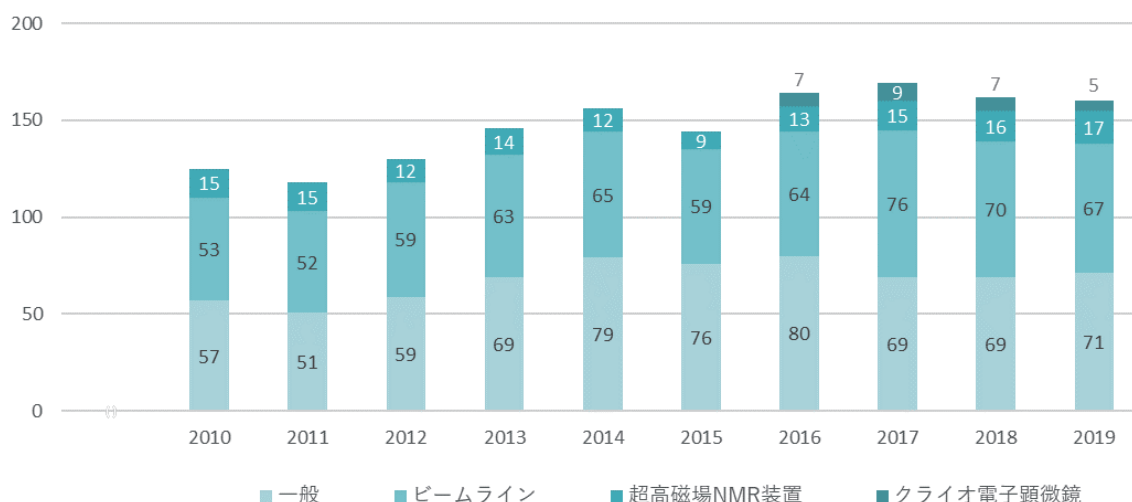


公募ポスター
※年度途中でも受付可

共同研究員

1959 年度より共同研究員制度を実施しており、2019 年度までに総計 4,810 名の研究者がこの制度を利用し、蛋白質にて研究に従事しました。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ます。2016 年度からは新たにクライオ電子顕微鏡の共同利用を開始しました。

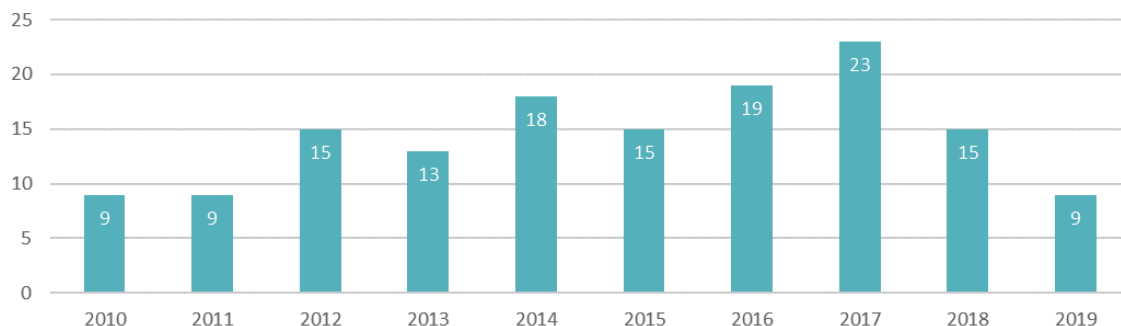
共同利用・共同研究課題数



国際共同研究

2005 年度からは国際共同研究を広く海外へ公募し、本研究所の主任研究者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、これまでに世界各国の研究者と国際共同研究を推進してきました。2019 年度には、7 ヶ国（インド、米国、韓国、キューバ、台湾、ウルグアイ、マレーシア）から 9 件 34 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ました。

国際共同研究課題数



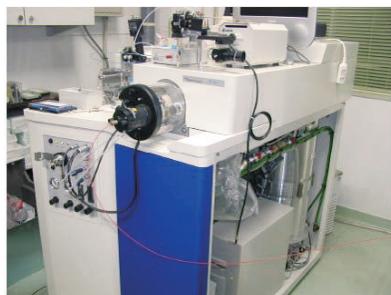
蛋白質研究所セミナー

蛋白質及び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、研究コミュニティの発展に貢献しています。2019 年度には 14 の蛋白研セミナーを開催しました。また、中学生や高校生に向けたセミナーや科学イベントにも積極的に参加し、将来を担う若い学生の成長をサポートしています。

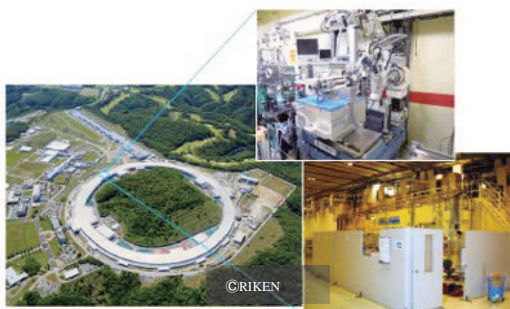
大型設備



クライオ電子顕微鏡群



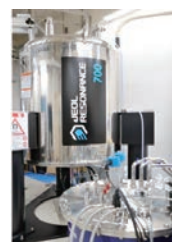
生体超分子構造解析装置



SPring-8 生体超分子複合体構造解析ビームライン BL44XU



超高磁場溶液 NMR 装置群



固体 NMR 装置群



高輝度 X 線回折装置

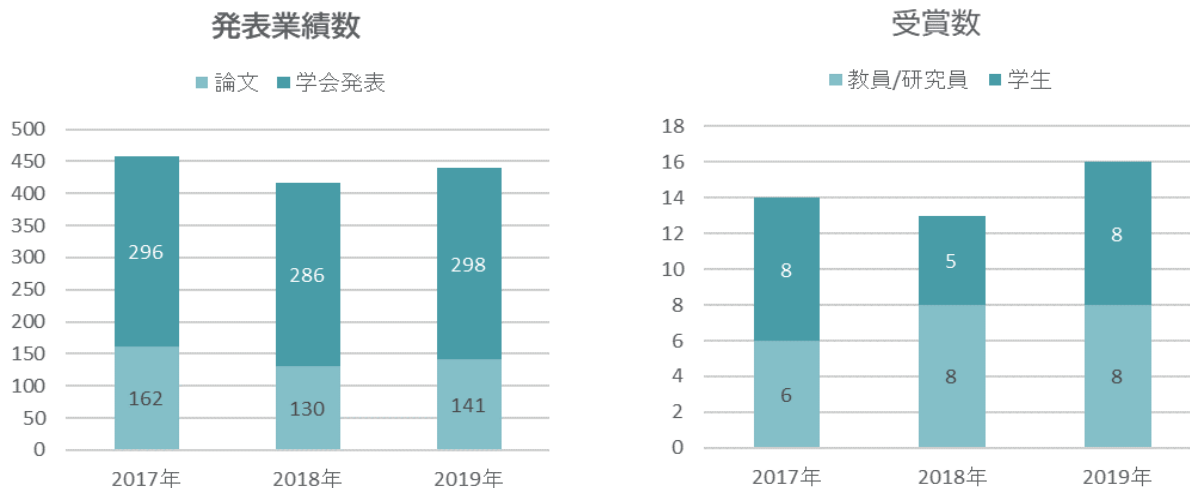


研究活動

蛋白研では、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研究を行っています。

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を行い、国内外にわたり常に蛋白質研究の先端を走っています。これまでの伝統に基づきつつ、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います。

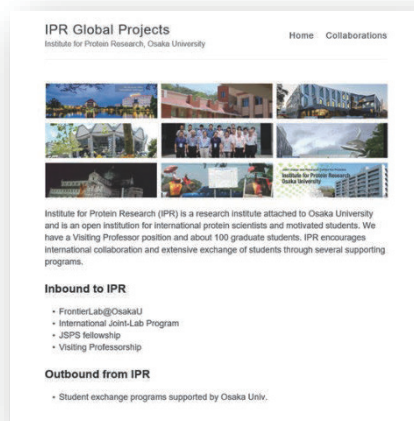
発表業績/受賞



国際学術交流

蛋白研では、外国人招へい研究者・外国人特別研究員（日本学術振興会）、その他の資金により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ます。2005年度から、新たに研究所独自の国際共同研究制度を設け、蛋白研あるいは大型放射光施設 SPring-8 に滞在して、蛋白研が設置した施設を利用した国際共同研究を推進しています。さらに、国際的に協力して研究活動を活発に行うため、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ます。

	機関名	国名	締結年
1	国立遺伝学・生物工学センター	キューバ	2003
2	国立放射光科学研究センター	台湾	2007
3	国立化学生物科学研究所	インド	2009
4	北京大学 蛋白質科学センター	中国	2014
5	ソウル大学 薬学大学	韓国	2015
6	ニュージャージー州立大学ラトガース 定量生命医学研究所	米国	2015
7	国立清華大学 生命科学院	台湾	2015
8	バンジャール大学	インド	2017
9	ユニバーシティ・カレッジ・ダブリン	アイルランド	2017
10	インド科学教育研究大学 ティルヴァナンタプラム	インド	2017
11	シカゴ大学	米国	2017
12	ルール・ボーフム大学生物学および生物工学部	ドイツ	2017
13	国立イタリア技術研究所	イタリア	2018
14	オーストラリア国立大学 理学研究科化学専攻	オーストラリア	2020
15	アイルラング大学 生体分子工学研究センター	インドネシア	2020



蛋白研ホームページ

「IPR Global Projects」ページにて
蛋白研の国際連携を紹介

www.protein.osaka-u.ac.jp/Global/

リトリート 2019

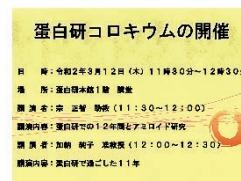
2019 年 11 月 21 日、22 日の日程で、研究所主催の研究報告会（第 18 回蛋白研リトリート）を、大阪大学吹田キャンパス内の銀杏会館で開催しました。大学院生、若手研究者を中心に、15 件の口頭発表と、33 件のポスター発表が行われました。そのうち、学生による発表について、口頭発表は教員の審査員が、ポスター発表は参加者全員が審査し、特に優れた発表について 3 件のベストオーラルプレゼンテーション賞と 3 件のポスター賞を授与しました。口頭、ポスター発表のほかに、ワークショップとして、蛋白研の技術部門の紹介、高速 LC-MS/MS、タンパク質の 3D モデリングのツール、最新の NMR 解析についての紹介が行われ、技術部門の業務に関して理解を深めるとともに、タンパク質研究の最先端技術について知る機会となりました。



さらに、事前アンケートで招待講演者として希望が多かった、京都大学大学院医学研究科 岩田想氏、2019 年度蛋白研に着任された水口賢司氏、大阪大学大学院生命機能研究科 近藤滋氏、大阪大学産業科学研究所 永井健治氏から、それぞれの研究分野の最新の研究成果や情報提供を行って頂きました。講演や発表中だけでなく、コーヒーブレイク、懇親会の時間も含め、研究室の垣根を超えた学生と教職員間の自由な対話や、普段交流の少ない研究室間の研究に関する議論、意見交換が活発に行われた、充実した 2 日間でした。

蛋白研コロキウム

FD（ファカルティ・ディベロップメント）の一環として、毎年 5 回程度研究所内コロキウムを実施しています。若手研究者を積極的に講演者とし、発表の機会を与えると同時に活発な議論の場を提供し、所内外の研究者が互いの研究を知ること、知的刺激を受ける場所、共同研究が生まれる土壌を生み出しています。



代表的なプロジェクト研究

※補助金・受託研究・科研費: 1000 万円以上 共同研究: 100 万円以上で計上
R2 年度（2020 年度）現在継続中のプロジェクト

科学研究費補助金

機関	事業名	研究課題名	研究期間
独立行政法人 日本学術振興会 (JSPS)	科学研究費補助金 新学術領域研究	炎症疾患の代謝アダプテーション	2017-2021
		報酬/目的指向行動の神経回路機構	2016-2020
		構造を基盤としたプロトン排出の戦略的分子設計	2016-2020
		複製サイクルにおけるエピゲノム情報と高次クロマチン構造との連携の解明	2019-2023
	科学研究費補助金 基盤研究 (A)	RAD51/DMC1-DNA複合体の動的変化による組換え反応制御のメカニズム	2019-2021
		ケミカルバイオロジーツールを利用したWntシグナル伝達機構の構造的解明	2020-2022

補助金

機関	事業名	研究課題名	研究期間
国立研究開発法人 日本医療研究開発機構 (AMED)	創薬等ライフサイエンス研究支援基盤 事業	創薬等ライフサイエンス研究のための相関構造解析プラットフォームによる支援と高度化(創薬等ライフサイエンス研究のための多階層構造生命科学解析技術の支援と高度化)	2017-2022
		Structure-based protein designを駆使した抗体代替物の創成と高難度組換え蛋白質生産の支援	2017-2022
		創薬等ライフサイエンス研究を促進する研究支援とデータサイエンス	2017-2022

受託研究

機関	事業名	研究課題名	研究期間
文部科学省(MEXT)	MEXT→国立研究開発法人理化学研究所 科学技術試験研究委託事業	NMR共用プラットフォーム	2013-2020
国立研究開発法人 科学技術振興機構(JST)	ライフサイエンスデータベース統合推進事業 (統合化推進プログラム)	蛋白質構造データバンクのデータ検証高度化と統合化	2017-2022
	未来社会創造事業	創薬を加速する細胞モデリング基盤の構築	2019-2020
	先端計測分析技術・機器開発プログラム	超高感度スピン相関高分解能NMR装置開発	2015-2020
国立研究開発法人 日本医療研究開発機構 (AMED)	創薬支援推進事業	網膜におけるエピジェネティック機構の制御による新規網膜保護剤の探索	2018-2020
	再生医療実現拠点ネットワークプログラム	再構成基底膜ゲルを用いる移植心筋細胞の生着・成熟促進技術の開発	2020-2021
		次世代型マトリックスによる高効率骨格筋幹細胞分化誘導法の開発	2020-2022
	AMED→京都大学 再生医療の産業化に向けた評価基盤技術開発事業	腸肝循環の薬物動態を再現可能なデバイスの開発/凍結ヒトiPS細胞由来肝細胞の供給	2017-2021
	AMED→名古屋大学 創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業	クライオ電子顕微鏡のフィードバックに基づく膜タンパク質複合体の生産と技術支援	2017-2022

企業等との共同研究

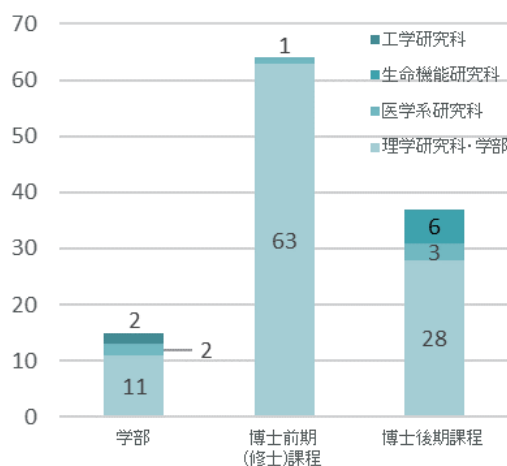
	企業名	研究期間
1	日本電子株式会社	2019-2021
2	株式会社マダム	2016-2020
3	株式会社マトリクソーム	2019-2020
4	富士フイルム株式会社	2019-2020
5	ロート製薬株式会社	2020
6	森下仁丹株式会社	2020-2021
7	旭化成ファーマ株式会社	2020
8	三井化学株式会社	2019-2020

教育活動

蛋白研は、設立理念に基づき「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る」環境づくりを重視し、分野横断的で国際的な研究・教育環境の整備につとめてきました。大学院理学研究科、医学系研究科、生命機能研究科、工学研究科と連携し、最先端の蛋白質研究に従事する教員による充実したカリキュラムを提供し、多彩な教育・研究体制を整えています。理学部、医学部、工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、工学研究科を合わせて常時 120 名前後の学生が蛋白研で学んでいます。

蛋白研で学ぶには

蛋白研の教員は、大阪大学大学院の理学研究科（化学専攻、生物科学専攻、高分子科学専攻）、医学系研究科、生命機能研究科、工学研究科（生物工学専攻）を担当しています。研究室配属の際に、それぞれの研究科（専攻）を担当する教員を指導教員に選べば、蛋白研に所属して教育研究活動を行うことができます。また学部教育においても、理学部、医学部、工学部、大阪大学の英語プログラム CBCMP（Chemistry-Biology Combined Major Program）コースに在籍する学生は人数の制限などはありませんが、学部 3、4 年時に卒業研究として蛋白研で研究することが可能です。



大学院担当研究室

理学研究科

- 化学専攻** 蛋白質有機化学(北條研)／機能・発現プロテオミクス(高尾研)／機能構造計測学(藤原研)／計算生物学(水口研)
- 生物科学専攻** 蛋白質有機化学(北條研)／蛋白質ナノ科学(原田研)／分子創製学(高木研)／機能・発現プロテオミクス(高尾研)／機能構造計測学(藤原研)／蛋白質結晶学(栗栖研)／電子線構造生物学(加藤研)／超分子構造解析学(中川研)／分子発生学(古川研)／ゲノム・染色体機能(篠原研)／高次脳機能学(足田研)／細胞システム(岡田研)／計算生物学(水口研)／膜蛋白質科学(三間研)／オルガネラバイオロジー(中井研)／生体分子解析(奥村研)
- 高分子科学専攻** 蛋白質結晶学(栗栖研)／電子線構造生物学(加藤研)／超分子構造解析学(中川研)

医学系研究科

- 医学専攻** 分子発生学(古川研)／高次脳機能学(足田研)

生命機能研究科

- 生命機能専攻** 分子創製学(高木研)／機能・発現プロテオミクス(高尾研)／電子線構造生物学(加藤研)／超分子構造解析学(中川研)／分子発生学(古川研)／高次脳機能学(足田研)／高磁場NMR分光(宮ノ入研)

工学研究科

- 生物工学専攻** 蛋白質結晶学(栗栖研)

大学院等高度副プログラム「蛋白質解析先端研究プログラム」

2017年度より、大阪大学の学際融合教育の一環である「高度副プログラム」に蛋白質研究所も参加し、構造生物学に興味を持つ大学院生を対象に授業を開始しています。

プログラム概要 本プログラムでは、阪大が得意とする構造生物学分野で、大型特殊装置（生体超分子複合体構造解析ビームライン、超高磁場NMR装置、クライオ電子顕微鏡）や国際的データベース（Protein Data Bank、The Cambridge Structural Database）を利用した先端研究を通じ、高度な専門性と幅広い見識を身に着けることを目指しています。大型特殊装置の開発担当者（学外連携機関：理化学研究所、株式会社リガク）といった外部講師による講義、外国人研究者による英語での講義も含まれ、広く社会に受け入れられ国際的に認められる若手人材を養成します。





教職員

※2020 年 10 月 1 日現在

所長

教授 中川 敦史

副所長

教授 古川 貴久

教授 高木 淳一

センター長

教授 栗栖 源嗣

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
准教授 川上 徹
助教 朝比奈 雄也

蛋白質ナノ科学研究室

教授 原田 慶恵
講師 鈴木 団
助教 外間 進悟

分子創製学研究室

教授 高木 淳一
助教 北郷 悠
特任助教（常勤） 有森 貴夫

機能・発現プロテオミクス研究室

教授 高尾 敏文
助教 武居 俊樹
特任助教（常勤） WANG QIUYI

膜蛋白質化学研究室

准教授 三間 穰治

蛋白質構造生物学研究部門

機能構造計測学研究室

教授 藤原 敏道
客員教授 児嶋 長次郎
准教授 松木 陽
助教 江川 文子
助教 宗 正智
特任助教（常勤） 原田 健一
特任助教（常勤） 杉木 俊彦
特任助教（常勤） 深澤 隼

蛋白質結晶学研究室

教授 栗栖 源嗣
准教授 田中 秀明
特任准教授（常勤） GERLE, Christoph
助教 川本 晃大

電子線構造生物学研究室

教授 加藤 貴之
助教 岸川 淳一
助教 高崎 寛子

超分子構造解析学研究室

教授 中川 敦史
特任准教授 吉村 政人
准教授 鈴木 守
准教授（兼） 山下 栄樹

蛋白質高次機能学研究部門

分子発生学研究室

教授 古川 貴久
准教授 茶屋 太郎
特任助教（常勤） 杉田 祐子

ゲノム-染色体機能研究室

教授 篠原 彰
准教授 古郡 麻子
助教 伊藤 将
助教 藤田 侑里香

高次脳機能学研究室

教授 疋田 貴俊
助教 小澤 貴明
助教 MACPHERSON, Tom

オルガネラバイオロジー研究室

准教授 中井 正人

蛋白質ネットワーク生物学研究部門

細胞システム研究室

教授 岡田 真里子
特任講師（常勤） 田畑 祥
助教 飯田 湊太
助教 市川 彩花
特任助教（常勤） MUENZNER ULRIKE

計算生物学研究室

教授 水口 賢司
准教授 橋本 浩介
助教 長尾 知生子

細胞核動態情報研究室

特任教授 永野 隆
教授（兼） 古川 貴久

感染病態システム研究室

特任教授（常勤） 今井 由美子
教授（兼） 岡田 真里子

客員PI研究室

招へい教授 山崎 俊夫
招へい教員 鈴木 雄太
招へい教員 竹田 哲也

附属蛋白質次世代構造解析センター

プロテインデータバンク研究室

教授（兼）	栗栖 源嗣
教授（兼）	藤原 敏道
特任准教授（常勤）	川端 猛
特任助教（常勤）	BEKKER, Gert-Jan

高磁場NMR分光光学研究室

准教授	宮ノ入 洋平
特任助教（常勤）（兼）	杉木 俊彦

高輝度放射光結晶解析研究室

教授（兼）	中川 敦史
准教授	山下 栄樹

高分解能クライオ電子顕微鏡研究室

教授（兼）	加藤 貴之
-------	-------

生体分子解析研究室

教授（兼）	高尾 敏文
教授（兼）	高木 淳一
教授（兼）	中川 敦史
准教授	奥村 宣明

産学・国際連携研究室

客員教授	松本 和也
------	-------

技術部

技術専門職員	川上 恵子
技術専門職員	小佐田 高史
技術専門職員	山下 鈴子
技術職員	阿部 直行
技術職員	辻井 寿典
特例嘱託技術職員	乗岡 尚子

事務部

事務長	田中 良和
庶務係	係長 一木 朋子
	主任 梅田 英明
	事務職員 和田 由美
会計係	係長 今田 かをり
	施設系主任 竹本 勲
	事務職員 仲川 遊子
	事務職員 小林 愛有美
拠点プロジェクト班	嘱託職員 佐藤 正子
研究支援係	係長 池田 年秀
	主任 秋本 真紀子
	主任 坂上 明弘
	特任事務職員 吉田 悦子

広報室

特任事務職員	田中 優子
--------	-------

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
寄附研究部門助教	谿口 征雅



運営協議会委員

議長	中川 敦史	大阪大学蛋白質研究所長
学内委員 (5名)	下條 真司	大阪大学サイバーメディアセンター・教授
	長澤 丘司	大阪大学大学院生命機能研究科・教授
	三木 裕明	大阪大学微生物病研究所・教授
	志賀 向子	大阪大学大学院理学研究科・教授
	辻川 和丈	大阪大学大学院薬学研究科・教授
学外委員 (8名)	遠藤 求	奈良先端科学技術大学院大学先端科学技術研究科バイオサイエンス領域・教授
	小林 武彦	東京大学定量生命科学研究所・教授
	島田 美樹	鳥取大学医学部附属病院・教授／薬剤部長
	中山 潤一	大学共同利用機関法人 自然科学研究機構 基礎生物学研究所・教授
	福澤 秀哉	京都大学大学院生命科学研究科・教授
	上村 みどり	帝人ファーマ株式会社創薬探索研究所・上席研究員
	角田 達彦	東京大学大学院理学系研究科・教授
	清宮 啓之	公益財団法人がん研究会がん化学療法センター分子生物治療研究部・部長



教職員

職名		人数
常勤	教授	13
	准教授	12
	講師	1
	助教	16
	寄附研究部門教授	1
	寄附研究部門准教授	0
	寄附研究部門助教	1
	特任教授	1
	特任准教授	2
	特任講師	1
	特任助教	8
	特任研究員	17
	技術職員	5
	事務職員	10
	特任事務職員	4
	嘱託職員	1
	小計	93
非常勤	特任教授	1
	特任准教授	1
	特任研究員	16
	技術補佐員	21
	事務補佐員	19
	嘱託職員	2
	小計	60
計		153

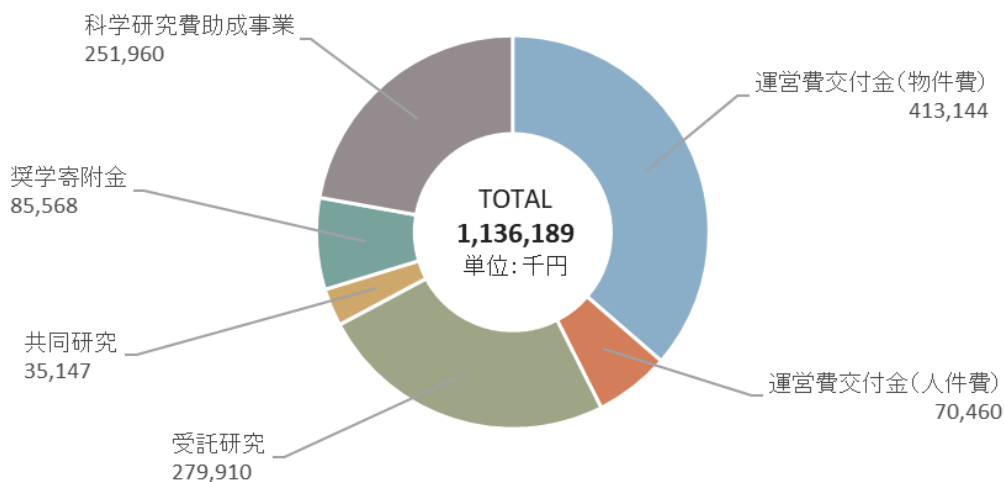
招へい・共同研究員

職名		人数
招へい	教授	4
	准教授	0
	教員	4
	研究員	5
	計	13
共同研究員 (2019年度)	国際共同研究員	34
	共同研究員	839
	(一般)	213
	(Beamline)	526
	(NMR)	73
	(クライオ)	27
	計	873

学生

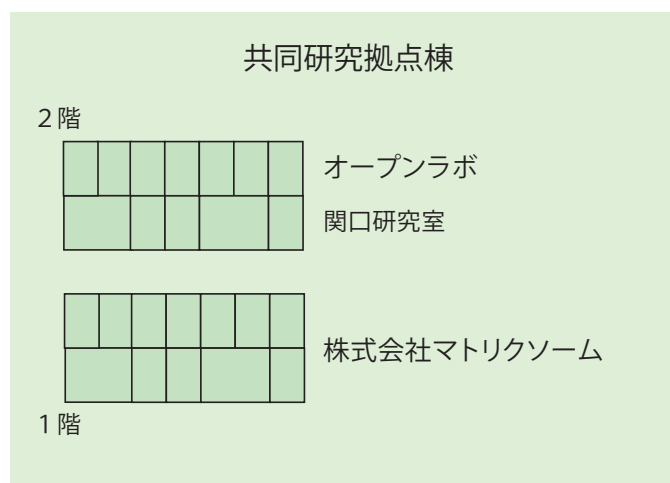
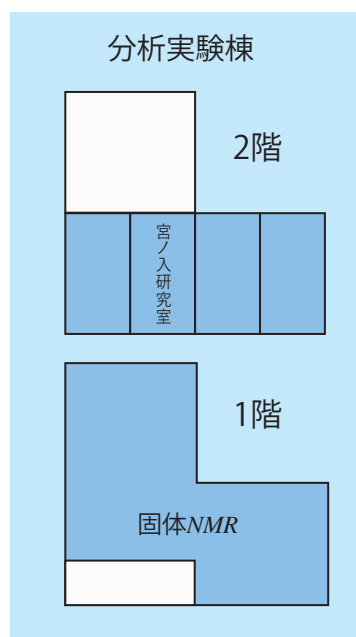
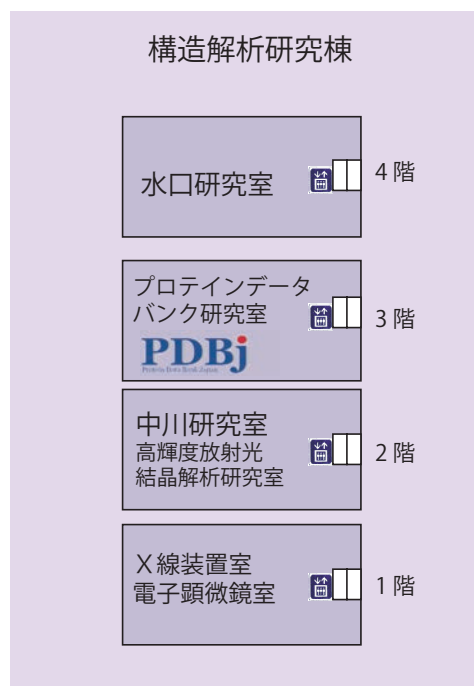
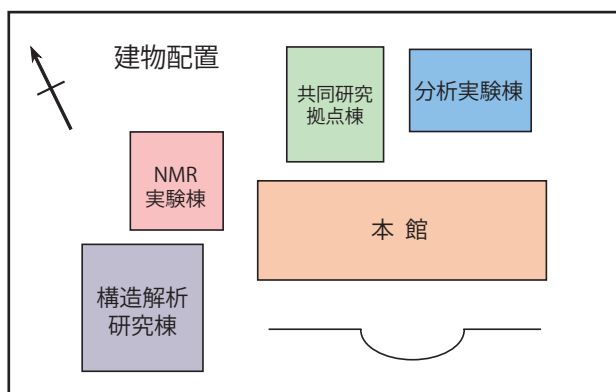
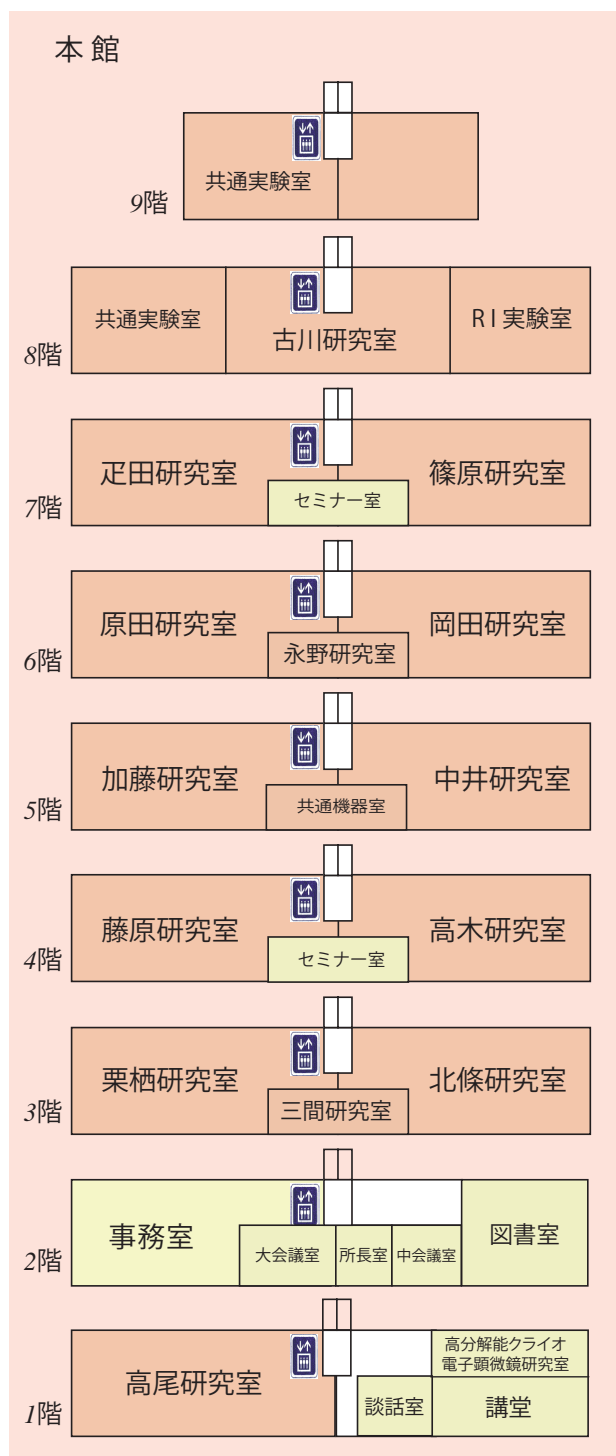
課程	人数
学部生	15
大学院学生（修士課程）	64
大学院学生（博士課程）	37
研究生	3
計	119

決算(2019 年度)



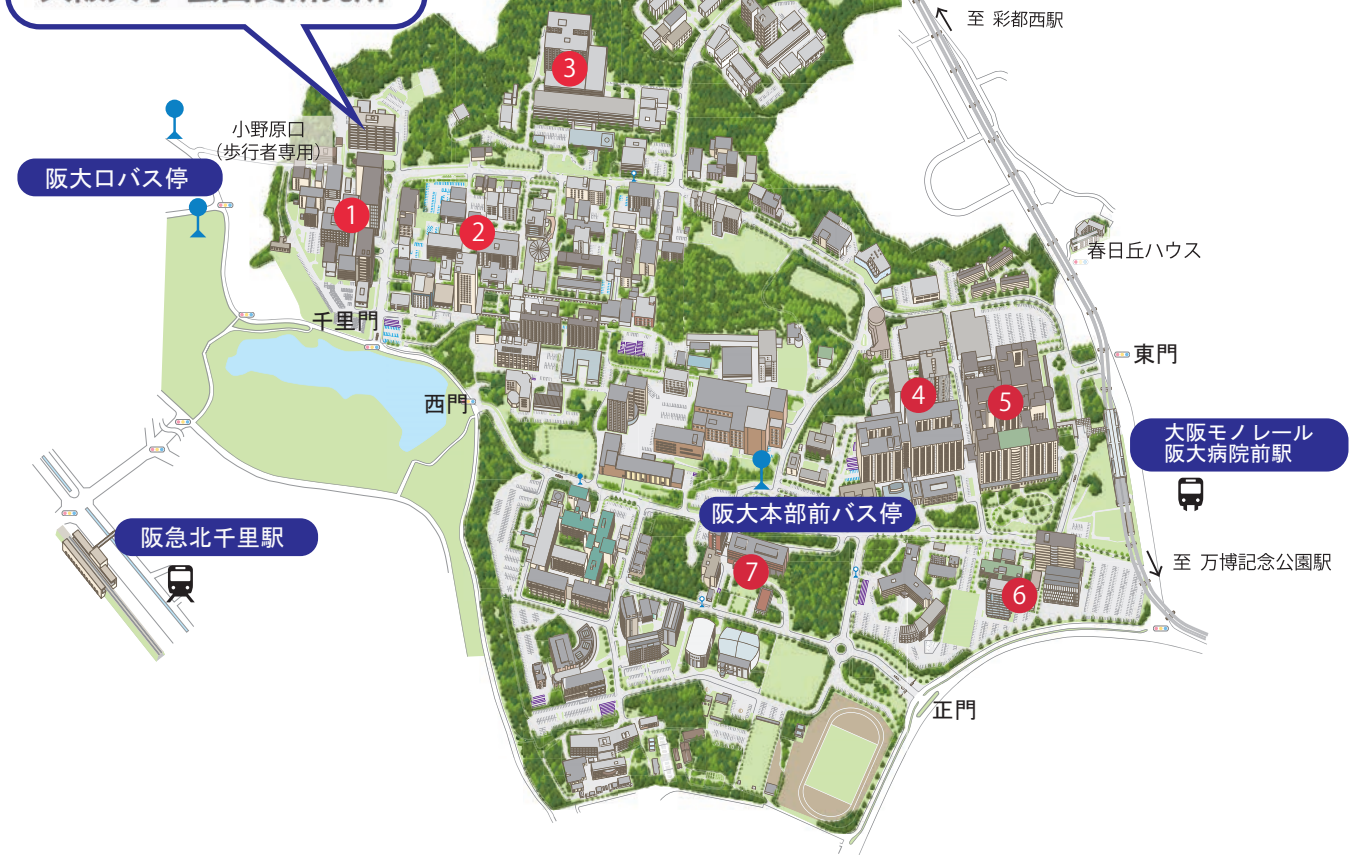


建物配置図



ACCESS MAP

大阪大学吹田キャンパス



- | | | | |
|-----------|-------------|-----------|----------|
| ① 微生物病研究所 | ② 工学部・工学研究科 | ③ 産業科学研究所 | ④ 医学系研究科 |
| ⑤ 医学部附属病院 | ⑥ 生命機能研究科 | ⑦ 本部事務機構 | |



電車

阪急電鉄千里線 北千里駅下車 徒歩 15 分

モノレール

大阪モノレール彩都線 阪大病院前駅下車 徒歩 20 分

バス

- 大阪メトロ御堂筋線 千里中央駅から
阪急バス「小野原東行」「豊川駅行」 阪大入口下車 徒歩 5 分
阪急バス「阪大本部前行」又は「茨木美穂ヶ丘行」
阪大本部前下車 徒歩 10 分
- 阪急電鉄茨木市駅から (JR 茨木駅経由)
近鉄バス「阪大本部前行」 阪大本部前下車 徒歩 10 分

大阪大学蛋白質研究所・広報室

〒565-0871 吹田市山田丘 3 - 2

TEL: 06-6879-8594 (庶務係)

FAX: 06-6879-8590

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

INSTITUTE for  PROTEIN RESEARCH
OSAKA UNIVERSITY

