

平成16年度 事業報告書

自 平成16年4月 1日
至 平成17年3月31日

I. 事業の状況

1. 助成部(一般会計)に関する事項

蛋白質に関する研究の助成及び奨励について、従来どおり下記のごとく助成を行いました。

(1) 一般研究に対する助成

大阪大学蛋白質研究所における各部門及び研究施設に対し 2,716,961 円の助成を行いました。

蛋白質有機化学研究部門	蛋白質溶液学研究部門
蛋白質代謝研究部門	酵素反応学研究部門
蛋白質物理構造研究部門	蛋白質化学構造研究部門
蛋白質生理機能研究部門	蛋白質生合成研究部門
蛋白質物性研究部門	蛋白質機能制御研究部門
プロテオミクス総合研究センター	

(2) 蛋白質に関する研究者養成に対する助成

大阪大学蛋白質研究所若手研究者3名に対し、奨学金を支給しました。

支出金額 2,040,000 円

氏名	研究課題	支給額(円)	期間
樹山 敦子	「新規概日時計関連分子」PIPSの機能解析	816,000円	16.4.1～17.3.31
内田 達也	海産無脊椎動物グミ由来溶血性レクチン CEL-IIIの構造生物学	408,000円	16.4.1～16.9.30
戸所 泰人	固体 NMR によるリン脂質二重膜結合マストパランXの構造解析	816,000円	16.4.1～17.3.31

(3) 金子・成田研究奨励金の交付

アミノ酸、ペプチド、蛋白質等に関する優れた研究に対する研究奨励金の本年度該当者は、選考委員会において選考の結果次の6名に決定し、それぞれ60万円を交付しました。

支出金額 3,600,000円

氏名	所属	研究題目
古川 功治	産業技術総合研究所 主任研究員	生体に学ぶ、抗体の抗原親和性上昇戦略の構造基盤解明
小出 隆規	新潟薬科大学薬学部 助教授	コラーゲントリプルヘリックスを構造基盤とするペプチド超分子の創製と応用に関する研究
大石 徹	大阪大学大学院理学研究科化学専攻 助教授	梯子状ポリエーテルをモチーフとした膜タンパク質認識分子の合成と機能解析
橋本 博	横浜市立大学大学院総合合理学研究科 助手	ヒト PAD4 に関する構造生物学的研究
高橋 聡	大阪大学蛋白質研究所 助教授	一分子測定技術を使った蛋白質の折り畳み過程の観察
藤本 ゆかり	大阪大学大学院理学研究科化学専攻 助手	免疫増強活性をもつペプチドグリカン部分構造の合成と受容体による認識機構の解明

(4) 分子生物学に関する研究助成

A M B O分子生物学に関する研修会開催について各種予定等について鋭意調整を重ねたが年度内開催が不可能となり、下記により実施することとなった。

第28回 A-IMBN・AMBO研修会

日時 平成17年5月30日(月)～6月7日(火)

場所 大阪府吹田市山田丘
大阪大学大学院医学系研究科、同大学院生命機能研究科

課題 Innovative strategy for post genomic research-

Integrated functional analyses of disease-associated sugar chains and proteins

主宰者 大阪大学大学院医学系研究科

生化学・分子生物学講座 教授 谷口直之

(5) 蛋白質に関するセミナー・講演会等開催への助成

大阪大学蛋白質研究所で次のとおりセミナー・講演会等を開催し、これに対して助成をしました。

セミナー

開催年月日・開催場所	課 題	世 話 人
平成16年 6月 3日 ～ 6月 4日 大阪大学蛋白質研究所	化学と生物の融合:生体金属科学の構築に向けて	青野重利(岡崎総合バイオ) 齋藤正男(東北大・多元研) 城 宣嗣(理研・播磨) 長谷俊治(阪大・蛋白研)
平成16年 6月23日 ～ 6月24日 大阪大学蛋白質研究所	ヒストンの修飾とその機能	眞貝洋一(京大・ウイルス研) 田嶋正二(阪大・蛋白研)
平成16年 6月25日 大阪大学蛋白質研究所	結晶になる蛋白質標品かどうかを判定する方法及び膜蛋白質を精製結晶化する方法	油谷克英(理研・播磨) 伊藤恭子(兵庫県立大生命) 月原富武(阪大・蛋白研)
平成16年10月21日 ～ 10月22日 大阪大学蛋白質研究所	神経系の特異機能を制御する蛋白質の細胞分子機構	三木直正(阪大・医) 吉川和明(阪大・蛋白研)
平成16年11月11日 ～ 11月12日 大阪大学蛋白質研究所	葉緑体:構築と分解のダイナミクス	中井正人(阪大・蛋白研)
平成16年11月19日 ～ 11月20日 大阪大学蛋白質研究所	生体系NMRにおける技術革新	甲斐荘正恒(都立大院理) 阿久津秀雄(阪大・蛋白研)
平成16年12月25日 ～ 12月26日 大阪大学蛋白質研究所	蛋白質の自己組織化メカニズム - 折り畳み・デザイン・アミロイド形成 -	新井宗仁(産業総研) 浜田大三(母子医療センター)
平成17年 1月 6日 ～ 1月 7日 大阪大学蛋白質研究所	翻訳後修飾のプロテオミクス	平野 久(横浜市大・理) 網澤 進(島津製作所) 高尾敏文(阪大・蛋白研)
平成17年 1月13日 ～ 1月14日 大阪大学蛋白質研究所	DNA 修復の分子ならびに構造生物学	山縣ゆり子(熊本大院・薬) 篠原 彰(阪大・蛋白研)
平成17年 3月 2日 大阪大学蛋白質研究所	DDBJing and PDBJing - 講習会 - in 大阪 -	金城 玲(国立遺伝学研) 福地佐斗志(国立遺伝学研) 中村春木(阪大・蛋白研)
平成17年 3月 7日 大阪大学蛋白質研究所	構造解析に向けてのタンパク質の発現	中川敦史(阪大・蛋白研) 池上貴久(阪大・蛋白研)

平成17年 3月14日 ~ 3月15日 大阪大学蛋白質研究所	プロテオミクス:創薬へのアプローチ	網澤 進 (島津製作所) 西村 紀 (島津製作所) 永井克也 (阪大・蛋白研) 奥村宜明 (阪大・蛋白研)
--------------------------------------	-------------------	----------------------------------------------------------------

講演会

開催年月日・開催場所	演 題 ・ 講 演 者	世 話 人
平成16年 4月 9日 大阪大学蛋白質研究所	“Supra-molecular protein complex organization by L27 (Lin-27, Lin-7) domains” Department of Biology, Hong-Kong University of Science and Technology Prof. Mingjie Zhang	大阪大学蛋白質研究所教授 阿久津秀雄
平成16年 4月21日 大阪大学蛋白質研究所	“Testing Folding Simulation by Experiments” MRC Centre for Protein Engineering, UK Dr. Satoshi Sato	大阪大学蛋白質研究所助教授 高橋 聡
平成16年 4月23日 大阪大学蛋白質研究所	“Folding and chaperone-like activity of Mj Hsp16.5” Institute of Physical Chemistry, College of Chemistry and Molecular Engineering, Peking University, China Associate Prof. Aoneng Cao “Small heat shock proteins with chaperone activity: α -crystallin, Hsp22, and Hsp33. Centre for Cellular and Molecular Biology, Hyderabad, India Prof. Mohan Ch. Rao	大阪大学蛋白質研究所教授 後藤祐児
平成16年 7月 5日 大阪大学蛋白質研究所	“Transient structure: Kinetic intermediate during the folding pathway of apomyoglobin” Department of Molecular Biology, The Scripps Research Institute, La Jolla, California, USA Chiaki Nishimura, PhD	大阪大学蛋白質研究所教授 後藤祐児
平成16年 7月16日 大阪大学蛋白質研究所	“Discerning the structure and energy of multiple transition states in protein folding using ψ -analysis along with tests of the Diffusion-Collision Model” Department of Biochemistry and Molecular Biology, Institute for Biophysical Dynamics, University of Chicago, USA Associate Professor Tobin R. Sosnick, PhD	大阪大学蛋白質研究所教授 後藤祐児

平成16年11月24日 大阪大学蛋白質研究所	“Post-translational Control of the SOD1 Maturation and Its Relevance to ALS” Department of Chemistry, Northwestern University Dr. Yoshiki Furukawa	大阪大学蛋白質研究所助教授 高橋 聡
平成16年12月14日 大阪大学蛋白質研究所	“Cancer susceptibility and the functions of The BRCA2 tumour suppressor” CR UK Department of oncology & The MRC Cancer Cell Unit, Hutchison/MRC Research centre, UK Dr. Ashok Venkitaraman	大阪大学蛋白質研究所教授 篠原 彰

シンポジウム

開催年月日・開催場所	名 称 等	主 宰 者
平成16年 7月 5日 大阪大学蛋白質研究所	大阪大学蛋白質研究所 国立ソウル大学領域間プログラム合同シンポジウム	大阪大学蛋白質研究所 国立ソウル大学
平成16年11月15日 ～ 11月16日 千里阪急ホテル	Frontiers of Proteomics – Aims and Perspectives –	大阪大学蛋白質研究所

2. 事業部（研究・情報）（収益事業会計）に関する事項

(1) 研究結果

- 1) クロロホルム・フェノール混合溶媒を用いたコンバージェント固相合成法の開発に関連して以下のペプチドを合成した。
 - a. アミロイドペプチド (1-40) および (40-1)
 - b. プロキネチシン 2 (81-ペプチド) の N 端セグメント (1-40)-チオエステル誘導体。
 - c. Green fluorescent protein (GFP) の N 端セグメント (1-69) 関連ペプチドのチオエステル誘導体。
- 2) ネイティブ化学ライゲーション法の改良と応用に関連した研究。
 - a. Cys(Acm) から定量的に Acm 基を除去するための試薬として AgOTfa が有用であることを確認した。
 - b. この方法を応用し、3段階のライゲーション反応を経てムスカリニックシン 3 を合成した。
 - c. 化学的に合成した GFP (1-69)-チオエステルと、遺伝子工学的に合成した GFP (70-238) のライゲーションにより GFP を全合成するための予備実験を行った。
- 3) Fmoc 法をペプチドの液相合成に応用するための基礎条件を検討した。
- 4) His(Bom) を含むペプチドから Bom 基を脱離する際に見られる副反応の詳細を明らかにした。
- 5) 溶液物性の研究に有用な下記のペプチドを合成した。
 - a. イソギンチャク由来エラスターゼ阻害ペプチド (Anemonia elastase inhibitor) およびアナログ
 - b. Glu₁₂-Ala₁₂ および Ala₁₂-Glu₁₂
 - c. (X-Y-Gly)₁₀: X,Y=4(R)-Hyp, 4(S)-Hyp, 4(R)-fPro, 4(S)-fPro
- 6) 1 - デオキシフルクトシルバリンを N 端に有するペプチドの合成を行った。
- 7) リピド A 類の合成法の検討を昨年引き続きおこなった。
- 8) 蛍光標識糖脂質の改良合成法の検討を開始した。

(2) 研究発表

- 1) Katayama, S., Ishimaru, M., Nishio, H., Nishiuchi, Y., Kimura, T.
Synthesis and disulfide structure determination of muscarinic toxin 3.
Peptide Science 2004, (2005) in press.
- 2) Nishiuchi, Y., Nishio, H., Ishimaru, M., Kimura, T.
Synthesis of amyloid β -peptides by employing a convergent solid-phase approach performed in a mixture of chloroform and phenol.
Peptide Science 2004, (2005) in press.
- 3) Nishiuchi, Y., Nishio, H., Ishimaru, M., Kimura, T.
Convergent solid-phase approach performed in a chloroform-phenol mixed

solvent: Synthesis of amyloid β -peptides as examples with a difficult sequence.
Peptides 2004, (2005) in press.

- 4) Yoshizawa-Kumagaye, K., Nishiuchi, Y., Nishio, H., Kimura, T.
Amino acid deletion products resulting from incomplete deprotection of Boc group from the N^α -benzyloxymethylhistidine residue during solid-phase peptide synthesis.
J. Peptide Science, (2005) in press.
- 5) Yoshizawa-Kumagaye, K., Ishizu, T., Isaka, S., Tamura, M., Okihara, R., Nishiuchi, Y., Kimura, T.
Further studies on the side reactions associated with use of N^α -benzyloxymethylhistidine.
Protein Peptide Letters, (2005) in press.
- 6) Nishio, H., Nishiuchi, Y., Ishimaru, M., Kimura, T.
Chemical synthesis of kurtoxin, a T-type calcium channel blocker.
Letters in Peptide Science, **10**, (2003) 589-596.
- 7) Yamazaki, T., Furuya, H., Watanabe, T., Miyachi, S., Nishiuchi, Y., Nishio, H., Abe, A.
Quantitative analysis of helix-coil transition of block copolypeptide, Glu₁₂-Ala₁₂, by combined use of CD and NMR spectroscopy.
Peptide Science (Biopolymers), (2005) in press.
- 8) Nishi, Y., Doi, M., Uchiyama, S., Nishiuchi, Y., Nakazawa, T., Ohkubo, T., Kobayashi, Y.
Stabilization mechanism of triple helical structure of collagen molecules.
Letters in Peptide Science, (2005) in press.
- 9) Doi, M., Nishi, Y., Uchiyama, S., Nishiuchi, Y., Nishio, H., Nakazawa, T., Ohkubo, T., Kobayashi, Y.
Synthesis and characterization of the collagen model peptides with double substitutions in (Pro-Pro-Gly)₁₀;
(4(*S*)-hydroxyproline-4(*R*)-hydroxyproline-Gly)₁₀, (4(*R*)-hydroxyproline--4(*R*)-hydroxyproline-Gly)₁₀ and (4(*S*)-fluoroproline-4(*R*)-fluoroproline--Gly)₁₀.
J. Peptide Science, (2005) in press.
- 10) Nishi, Y., Uchiyama, S., Doi, M., Nishiuchi, Y., Nakazawa, T., Ohkubo, T., Kobayashi, Y.
Different effects of 4-hydroxyproline and 4-fluoroproline on the stability of collagen triple helix.
Biochemistry, (2005) in press.
- 11) Hemmi, H., Kumazaki, T., Yoshizawa-Kumagaye, K., Nishiuchi, Y., Yoshida, T., Ohkubo, T., Kobayashi, Y.
Structural and functional study of anemonia elastase inhibitor, a

“non-classical” Kazal-type inhibitor from *Anemonia sulcata*.
Biochemistry, (2005) in press.

(3) 情報関連事業について（情報室）

Peptide Information 誌は、本年3月末現在で62名が利用しています。また、Peptide Information 誌のフロッピーディスク版 (PI-DISK) の利用者は、本年3月末現在で22名です。民間の国内1社には文献データベース (PRF/LITDB) とタンパク質のアミノ酸配列データベース (PRF/SEQDB) のデータを提供しています。

配列データベース (PRF/SEQDB) については、パーソナルコンピュータによる利用者が、本年3月末現在で9名です。大型計算機による利用者は、国内の4大学・2研究所 (東大、京大、阪大、名大、東大医科研、遺伝研) と、国外の1研究機関 (National Biomedical Research Foundation) です。また、配列データベース作成の国際協力のため、米国 National Center for Biotechnology Information にアミノ酸配列データベース及び関連する文献データベースのデータを提供しています。

財団法人蛋白質研究奨励会において開設している World Wide Web のサーバーを通して、文献データベース (PRF/LITDB) および配列データベース (PRF/SEQDB) がインターネット上で直接利用される頻度は、今年度累計で約12,000件でした。

ペプチド及びその関連化合物に関するデータベース (PRF/SYNDB) のデータを、コンピュータで利用できる形式に入力する作業を開始し、カードに記載された構造データ自体も、画像データとして利用できるようにしました。本データベースのインターネットから利用できる範囲の拡充もはかっております。また、配列データをより一層高度に利用するために、蛋白質の修飾及びペプチド中の異常アミノ酸等の情報を直接検索できるデータベース (PRF/MODDB) の作成を継続しています。また、国際協力の立場から、各国の研究機関によるデータベース利用環境の整備を進め、大学・研究機関がより一層利用しやすいデータの提供方法を検討し、特にインターネットのより積極的な利用環境の構築を続けています。あわせて研究者が利用しやすい検索機構の開発を行っています。

平成15年度をもって終了しました文部科学省知的基盤研究「生体内ペプチドのデータベース作成の研究」については、その成果であるペプチドームデータベースの維持ならびに公開に引き続き協力しています。本研究に関連して、PRF/SEQDB の特長をいかしたデータベース検索ならびにデータ提供を行うため XML およびウェブサービスの研究も引き続き行っております。インターネットを利用した本データベースの構築方法についての研究、及び公開方法ならびにネットワーク機構の研究も続行します。ファクトデータの効率的な格納のための情報機器の開発ならびにデータベースへの自動格納の方法についての研究も継続しています。

文部科学省科学技術振興費による IT プログラム「スーパーコンピュータネットワ

ークの構築(バイオグリッド)」に平成14年度より参加し、データベースの構築、高度利用に関する研究を開始しましたが、本研究における「データグリッド」システムで利用する基礎データベースとして「疾病に関連する蛋白質とその変異位置に関するデータベース (PRF/DRPDB)」の構築を行っています。一方、既存のデータベース利用機構の XML 対応とウェブサービス化の機構を研究することにより、ペプチドームデータベースおよび当財団で構築している各種データベースの利用の拡充をはかります。