

平成17年度 事業報告書

自 平成17年4月 1日
至 平成18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 2,759,558 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（四研究系）	

(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 2,592,000 円

氏名	研究課題	支給額(円)	期間
竹島 秀幸	De novo 型 DNA メチルトランスフェラーゼによるヌクレオソーム DNA のメチル化機構に関する研究	816,000 円	17.4.1～18.3.31
大谷 寛人	脳内ヒスタミン神経系に関する研究	960,000 円	17.4.1～18.3.31
堀籠 大介	水溶性クロロフィル結合タンパク質(WSCP)の構造機能相関	816,000 円	17.4.1～18.3.31

(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5名に決定し、それぞれ 60 万円を交付しました。

支出金額 3,000,000 円

氏名	所属	研究題目
櫻井 敏彦	鳥取大学工学部生物応用工学科 助教授	モデル化 Seq-ポリペプチドによるアミロイドファイバーの構築と形成挙動の解明
岡村 高明	大阪大学大学院理学研究科高分子科学専攻 講師	拡張型ポリ(α-アミノ酸)の合成
佐藤 格	関西学院大学理工学部 専任講師	新規有機ビスマス/ジアルキル亜鉛複合試薬を用いるα, α-2置換アミノ酸の触媒的な不斉合成反応の開発
石水 毅	大阪大学大学院理学研究科有機化学講座 助手	N-配糖体加水分解酵素エンド-β-マンノシダーゼの機能
八木 宏昌	大阪大学蛋白質研究所機能構造研究室 助手	H ⁺ -ATP 合成酵素の回転触媒メカニズムの解明

(4) 分子生物学に関する研究助成

第28回A-IMBN・AMBO（アジア太平洋分子生物学ネットワーク・アジア分子生物学研究機構）に関する研修会を次の通り実施しました。

支出額 2,684,391 円

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2-2
大阪大学大学院医学系研究科

課題 “Innovative Strategy for Post-Genomic Research”
— Integrated Functional Analysis of Disease-Associated Sugar Chains and Proteins —

主催者 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	課 題	世 話 人
平成 17 年 4 月 18 日 ～19 日	染色体サイクルの制御ネットワーク	正井久雄 (都立臨床研) 滝澤温彦 (阪大院・理) 篠原 彰 (阪大・蛋白研)
5 月 26 日 ～27 日	蛋白質の昼と夜－フォールディングとミスフォールディング	内木宏延 (福井大・医) 津本浩平 (東大・新領域) 後藤祐児 (阪大・蛋白研)
6 月 22 日 ～23 日	Metals in Chemical Biology : 金属イオンを軸とした化学と生物学の融合に向けて	青野重利 (岡崎統合バイオ) 石森浩一郎 (北大院・理) 齋藤正男 (東北大・多元研) 長谷俊治 (阪大・蛋白研)
6 月 27 日 ～28 日	染色体 DNA のメチル化修飾の形成、維持とその異常	牛島俊和 (国立がんセ研) 田嶋正二 (阪大・蛋白研)
7 月 20 日	安定同位体標識による新たな展開	高尾敏文 (阪大・蛋白研)
7 月 26 日 ～27 日	生体系固体核磁気共鳴の新しい潮流	内藤 晶 (横浜国大院工) 竹腰清乃理 (京大院・理) 藤原敏道 (阪大・蛋白研)
7 月 28 日 ～29 日	膜蛋白質調製法の展開と構造・機能解析の最前線	下東康幸 (九大院・理) 藤井信孝 (京大院・薬) 相本三郎 (阪大・蛋白研)
10 月 24 日 ～25 日	体内時計と体内恒常性維持機構	石田直理雄 (産総研・筑波) 藤堂 剛 (京大・放射生物セ) 深田吉孝 (東大院・理・生) 永井克也 (阪大・蛋白研)
11 月 24 日 ～25 日	脳神経疾患研究の最前線	高橋良輔 (京大院・医) 吉川和明 (阪大・蛋白研)
平成 18 年 2 月 21 日	Membrane-proximal proteolysis: 膜近傍におけるプロテオリシス研究の最先端	瀬原淳子 (京大再生研) 高木淳一 (阪大・蛋白研)
3 月 7 日 ～8 日	疾患関連タンパク質の構造生物学	河野敬一 (北大院・理) 池上貴久 (阪大・蛋白研)
3 月 10 日	構造解析に向けてのサンプル調製	中川敦史 (阪大・蛋白研) 池上貴久 (阪大・蛋白研)
3 月 11 日	良質の X 線回折強度データを得るために	月原富武 (阪大・蛋白研)

3月22日 ～23日	生体分子構造情報の時間軸への展 開による生命機能の解説	木寺詔紀（横浜市大） 中村春木（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 17 年 4 月 15 日 大阪大学蛋白質研究所	Coenzyme A-Disulfide Reductase(s) and CoASH-Mediated Redox Control in Bacillus anthracis Wake Forest University School of Medicine, U.S.A Prof. Al Claiborne	大阪大学蛋白質研究所 教授 月原富武
平成 17 年 7 月 27 日 大阪大学蛋白質研究所	The Structure of Amyloids and Prions The Salk Institute, California, U.S.A Associate Professor Rolando Riek	大阪大学蛋白質研究所 教授 後藤祐児
平成 17 年 10 月 5 日 大阪大学蛋白質研究所	Molecular chaperones cellular machines for protein Folding Technical University Munich Department of Chemistry Prof. Johannes Buchner	大阪大学蛋白質研究所 教授 後藤祐児
平成 17 年 11 月 14 日 大阪大学蛋白質研究所	Sticky spots on proteins and how we might use them Department of Chemistry Chicago University U.S.A Prof. R. Stephen Berry	大阪大学蛋白質研究所 教授 後藤祐児
平成 17 年 12 月 19 日 大阪大学蛋白質研究所	Hydrostatic pressure and cosolvents as non-genomic factors leading to polymorphism of insulin amyloid Institute of High Pressure Physics, Polish Academy of Sciences, Poland Dr. Dzwolak Wojciech	大阪大学蛋白質研究所 教授 後藤祐児
平成 18 年 2 月 20 日 大阪大学蛋白質研究所	Structural Plasticity of ‘Natively Unfolded’ Protein: α -Synuclein and Its Pathological Implications School of Chemical and Biological Engineering, Seoul National University Prof. Seung R. Paik	大阪大学蛋白質研究所 教授 後藤祐児
平成 18 年 3 月 13 日	Insights into the Structure and Regulation of p53, a Key Suppressor Protein Chief, Chemistry Section Laboratory of Cell Biology, National Cancer Institute Ettore Appella, M.D.	大阪大学蛋白質研究所 教授 相本三郎

シンポジウム等

開催年月日・開催場所	名 称 等	主 宰 者
平成 17 年 11 月 7 日 ～8 日	COE 国際シンポジウム 2005 Assembly and Reconstitution of Membrane Proteins and Cellular Machineries	大阪大学蛋白質研究所 教授 月原富武
平成 18 年 2 月 2 日 ～3 日	第 2 回 DDBJing and PDBJing －第 1 4 DDBJing 講習会 in 大阪、 H 1 7 年度蛋白研セミナー－	大阪大学蛋白質研究所 教授 中村春木

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。

Green Fluorescent Protein (GFP) のN端チオエステルペプチド (1-69)、(1-47)、(48-69) を合成した。後者2種のチオエステルペプチドは、連続したライゲーション反応に供する。
- 2) ネイティブ化学ライゲーション法の改良と応用を検討した。
 - a. 慢性疼痛患者の脳脊髄液から単離された#68 (66 AAs) を合成した。
 - b. ムスカリニックキシン α を連続的なライゲーションで合成した。
 - c. 遺伝子工学的に合成した GFP (70-238)に、化学合成したチオエステル [(1-69)または(1-47)+(48-69)] の縮合反応を行った。
- 3) Fmoc 法による液相大量合成法を開発した。

Fmoc 基の切断時に生成するフルベン／塩基付加体を固定化する簡便な方法を考案し、液相大量合成に適用可能なプロトコルを開発した。
- 4) 強酸を用いた最終脱保護反応に伴う副反応の抑制法の検討を行った。

モデルペプチドを種々の条件下に強酸にさらし、生成する副生物の単離・構造決定を網羅的に行った。得られた情報を基に、副反応を抑制する無臭性添加剤の検討を行った。
- 5) アミロイド β ペプチド (1-40)、(1-42)、(25-35) の毒性に対して、細胞保護的に作用する低分子ペプチド類の合成研究を行った。
- 6) 神経変性疼痛に鎮痛的に作用するペプチド類の合成研究を行った。

疼痛を惹起する#56 (31 AAs) に対して、拮抗的に作用するペプチドを種々合成した。
- 7) 溶液中での構造解析に有用な下記のペプチドを合成した。
 - a. [4(S)Hyp-Pro-Gly]₁₅, [4(S)Hyp-4(R)Hyp-Gly]₁₅
 - b. (Gln)₅₀
 - c. オートムギ phytochrome A [Ser(PO₃H₂)⁵⁹⁸]₁-(569-628), [Ser⁵⁹⁸]₁-(569-628)
- 8) オートムギ phytochrome A [Ser(PO₃H₂)⁵⁹⁸]₁-(569-628), [Ser⁵⁹⁸]₁-(569-628)に関しては、脱リン酸による構造変化の検討も行った。
- 9) 糖尿病関連ペプチド、フルクトシルペプチドの固相合成を行った。
- 10) 蛍光標識脂質の合成法の改良を行った。
- 11) 糖ペプチド合成用糖結合アミノ酸誘導体の合成を行った。
- 12) シアリル糖ペプチドの合成研究を開始した。

(2) 研究発表

- 1) Yoshizawa-Kumagaye, K., Ishizu, T., Isaka, S., Tamura, M., Ohkihara, R., Nishiuchi, Y., Kimura, T.
Modifications associated with use of the benzyloxymethyl group on histidine.
Peptide Science 2005, (2006) in press.
- 2) Inui, T., Sargsyan, H., Cano, P., Ayzenshtat, I., Arshava, B., Anglister, J., Naider, F.
Synthesis and NMR analysis of the CCR5 and CXCR4 N-terminal peptides containing tyrosine sulfate.
Peptide Science 2005, (2006) in press.
- 3) Kubo, S., Nishio, H., Chino, N., Nishiuchi, Y., Nakazato, M., Yanagi, S., Ishimoto, H., Kimura, T.
Chemical synthesis of human β -defensin (hBD)-1, 2, 3 and 4: Optimization for folding reduced hBDs preferentially into a native conformation.
Peptide Science 2005, in press (2006).
- 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, **11**, 512-515 (2005).
- 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, **12**, 579-582 (2005).
- 6) 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), **80**, 225-232 (2005).
- 7) Doi, M., Nishi, Y., Uchiyama, S., Nishiuchi, Y., Nishio, H., Nakazawa, T., Ohkubo, T., Kobayashi, Y.
Collagen-like triple helix formation of synthetic (Pro-Pro-Gly)₁₀ analogues: (4(S)-hydroxyprolyl-4(R)-hydroxyprolyl-Gly)₁₀, (4(R)-hydroxyprolyl-4(R)-hydroxyprolyl-Gly)₁₀ and (4(S)-fluoroprolyl-4(R)-fluoroprolyl-Gly)₁₀.
J. Peptide Science, **11**, 609-616 (2005).
- 8) 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, **44**, 6034-6042 (2005).

- 9) Kawahara, K., Nishi, Y., Nakamura, S., Uchiyama, S., Nishiuchi, Y., Nakazawa, T., Ohkubo, T., Kobayashi, Y.
Effects of hydration on the stability of the collagen-like triple-helical structure of [4(*R*)-hydroxyprolyl-4(*R*)-hydroxyprolylglycine]₁₀.
Biochemistry, **44**, 15812-15822 (2005).
- 10) 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, **44**, 9626-9636 (2005).
- 11) Kataoka, Y., Takada, K., Oyama, H., Tsunemi, M., James, M.N., Oda, K.
Catalytic residues and substrate specificity of scytalidoglutamic peptidase, the first member of the eqolisin in family (G1) of peptidases.
FEBS Lett., **579**, 2991-2994 (2005).
- 12) Oda, K., Takahashi, T., Takada, K., Tsunemi, M., Ng, K.K., Hiraga, K., Harada, S.
Exploring the subsite-structure of vimelysin and thermolysin using FRETs-libraries.
FEBS Lett., **579**, 5013-5018 (2005).
- 13) Hiraga, K., Nishikata, Y., Namwong, S., Tanasupawat, S., Takada, K., Oda, K.
Purification and characterization of serine proteinase from a halophilic bacterium, *Filobacillus* sp. RF2-5.
Biochemistry, **44**, 9626-9636 (2005).
- 14) Onda, A., Yamamoto, H., Yamada, Y., Lee, K., Adachi, S., Okamura, T.A., Yoshizawa-Kumagaye, K., Nakajima, K., Kawakami, T., Aimoto, S., Ueyama, N.
Switching of turn conformation in an aspartate anion peptide fragment by NH . . . O- hydrogen bonds.
Biopolymers, **80**, 233-248 (2005).
- 15) Joseph, T., Lee, T.L., Ning, C., Nishiuchi, Y., Kimura, T., Jikuya, H., Ou, K., Chin, Y.C., Tachibana, S.
Identification of mature nocistatin and nociceptin in human brain and cerebrospinal fluid by mass spectrometry combined with affinity chromatography and HPLC.
Peptides, **27**, 122-130 (2006).

- 16) Liu, E. H. C., Nishiuchi, Y., Kimura, T., Tachibana, S.
Supraspinal nocistatin and its amide derivative antagonize the hyperalgesic effects of nociceptin in mice.
Nuroscience Lett., **397**, 59-63 (2006).
- 17) Chino, N., Kubo, S., Nishio, H., Nishiuchi, Y., Nakazato, M., Kimura, T..
Chemical synthesis of human β -defensin (hBD)-1, -2, -3 and -4: Optimization of the oxidative folding reaction.
Int. J. Pept. Res. & Ther., (2006) in press.

(3) 情報関連事業について (情報室)

データベースの利用の現状について

Peptide Information 誌は、本年3月末現在で58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19名です。民間の国内2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3大学・1研究所 (京大、阪大、国立遺伝研、長浜バイオ大学) と、国外の2研究機関 (National Biomedical Research Foundation, Georgetown University) 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、Entrez システムの一部として利用されています。

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13,000 件でした。また、インターネットメールによる化合物データベース (PRF/SYNDB) の検索依頼も増加してきています。

データベースシステムの改善について

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います。

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。また、研究者が利用しやすい検索機構の開発も行っています。

データベース利用に関する研究協力について

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、ならびにその公開に引き続き協力しています。ペプチドームデータベースに対しては、更に当財団で構築している文献データベース(PRF/LITDB)、配列データベース(PRF/SEQDB)および修飾データベース(PRF/MODDB)の一部のデータを提供すると共に、より柔軟な検索システムの開発研究を続けております。本研究に関連して、PRF/SEQDB の特長をいかしたデータベースの検索ならびにデータ提供を行うために 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をウェブサービス化するために、データベース自体を XML と対応すると共により高度なデータベース構築、利用機構の研究を続けます。これらの研究によって、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。

結語

上記の研究によって、当財団で培われてきたコンピュータやネットワークに関する技術や研究成果をより多くの研究者、研究機関で役立てていただけるように、新たなデータベース構築や検索システムの開発および幅広い研究協力を続けてまいります。