

「生命現象の解明と応用に資する新しい計測・分析基盤技術」  
平成16年度採択研究代表者

高橋 聡

(大阪大学蛋白質研究所 助教授)

## 「蛋白質の折り畳み運動解明を目指した一分子観測法の確立」

### 1. 研究実施の概要

本研究は、一分子運動の観測のための新しい手法を開発することで、蛋白質の折り畳み運動の理解を目指す。このために、I) 一分子を観察する新しい実験技術の開発、II) 一分子観察に適した蛍光ラベル化蛋白質の製作、III) 一分子観察実験のための新しいデータ解析手法の開発、という三つの個別テーマを設定する。第一の個別テーマでは、蛋白質試料がキャピラリー流路を一分子レベルで流れる過程を、蛍光強度の変化から検出する手法を開発する。この手法を使うことで、光学基板に固定していない試料の一分子観察を可能にする。第二の個別テーマでは、多種多様な生物由来のシトクロム *c* が一分子観察に適するかどうかを調べる。適切なシトクロム *c* 蛋白質を大量に調製できる実験系を確立すると共に、シトクロム *c* の熱安定性など物理化学的な性質を明らかにする。第三の個別テーマでは、一分子時系列情報からその背後に潜む系の状態空間の動的構造を論じるための解析手法・遷移動力学全般を包含する状態空間理論を開発する。新しい一分子観察法に基づくシトクロム *c* の時系列情報に対し解析手法を適用し、「ダイナミクスから見た」蛋白質構造の構築原理を解明する。

### 2. 研究実施体制

高橋グループ

研究グループ代表氏名：高橋 聡（大阪大学蛋白質研究所、助教授）

研究実施項目：一分子を観察する新しい実験技術の開発

三本木グループ

研究グループ代表氏名：三本木至宏（広島大学大学院生物圏科学研究科、助教授）

研究実施項目：一分子観察に適した蛍光ラベル蛋白質の作製

小松崎グループ

研究グループ代表氏名：小松崎 民樹（神戸大学理学部、助教授）

研究実施項目：一分子観察実験のための新しいデータ解析手法の開発

### 3. 主な研究成果の発表

#### (1) 論文 (原著論文) 発表

- Ttsunari Kimura, Takanori Uzawa, Koichiro Ishimori, Isao Morishima, Satoshi Takahashi, Takashi Konno, Shuji Akiyama and Tetsuro Fujisawa.  
“Specific collapse followed by slow hydrogen-bond formation of beta-sheet in the folding of single-chain monellin.”  
*Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **102**, 2748-2753 (2005).
- Kenta Oikawa, Shota Nakamura, Takafumi Sonoyama, Atsushi Ohshima, Yuji Kobayashi, Shin-ichi J. Takayama, Yasuhiko Yamamoto, Susumu Uchiyama, Jun Hasegawa, and Yoshihiro Sambongi.  
“Five Amino Acid Residues Responsible for the High Stability of *Hydrogenobacter thermophilus* Cytochrome  $c_{552}$ : RECIPROCAL MUTATION ANALYSIS.”  
*J. Biol. Chem.*, **287**, 5527-5532 (2005).
- Shin-ichi Ichiki, Shota Nakamura, Tadayasu Ohkubo, Yuji Kobayashi, Jun Hasegawa, Susumu Uchiyama, Hirofumi Nishihara, Keiko Mizuta and Yoshihiro Sambongi.  
“Cloning, expression, crystallization, and preliminary X-ray characterization of cytochrome  $c_{552}$  from a moderate thermophilic bacterium, *Hydrogenophilus thermoluteolus*.”  
*Acta Crystal.* **F61**, 395-398 (2005).
- Tamiki Komatsuzaki, Kyoko Hoshino, Yasuhiro Matsunaga, Gareth J. Rylance, Roy L. Johnston and David J. Wales  
“How Many Dimension is Required to Approximate Potential Energy Landscape of A Model Protein?”  
*Journal of Chemical Physics* **122**, 084714 (2005).