

桑 島 邦 博 ( 教 授 ) ( 2007 年 1 月 1 日 ~ 2013 年 3 月 31 日 ) \* )

A-1) 専門領域：蛋白質科学，生物物理学，生体分子科学

A-2) 研究課題：

- a) モルテン・グロビュール状態蛋白質オレイン酸複合体の抗腫瘍活性
- b) マルトデキストリン・グルコシダーゼの非可逆熱変性

A-3) 研究活動の概要と主な成果

- a) これまでの我々の研究から，モルテン・グロビュール状態の蛋白質とオレイン酸との複合体が腫瘍細胞を選択的に細胞死に導く作用のあることが分かっている。腫瘍細胞に対する選択性をさらに明確にするため，正常細胞に分類されるヒト末梢血単核球の培養細胞を用いて，蛋白質 - オレイン酸複合体の細胞死活性を調べた。蛋白質として，ヒト $\alpha$ ラクトアルブミン，ヤギ $\alpha$ ラクトアルブミン，イヌ乳リゾチーム，アポミオグロビン， $\beta_2$ ミクログロブリンを用い，モルテン・グロビュール状態にあるこれらの蛋白質とオレイン酸との複合体を熱処理法により作成した。各複合体のヒト末梢血単核球に対する細胞死活性を調べた。その結果，いずれの複合体も無害であり，腫瘍細胞 L1210 に対する顕著な細胞死活性を示した以前の結果と合わせて，複合体が腫瘍細胞を選択的に細胞死に導くことが改めて確認された。
- b) 大腸菌の細胞質酵素である，マルトデキストリン・グルコシダーゼ ( MalZ ) の熱変性を，差吸収スペクトルと分子研に設置されている示差走査型カロリメーター ( MicroCal VP-DSC ) を用いて解析した。その結果，MalZ の熱変性は非可逆的であり，現象論的には最も単純な非可逆 1 段転移で表されることが分かった。熱変性の律速段階は立体構造の協同的なアンフォールディングであり，天然構造が一気にアンフォールディングして非可逆的に変性状態にいたる。MalZ はアミノ酸残基数 604 の巨大な球状蛋白質であり，単ドメイン蛋白質として大きすぎるために，非可逆変性を示すと考えられる。

B-1) 学術論文

**M. S. CHANDAK, T. NAKAMURA, K. MAKABE, T. TAKENAKA, A. MUKAIYAMA, T. K. CHAUDHURI, K. KATO and K. KUWAJIMA**, "The H/D-Exchange Kinetics of the *Escherichia coli* Co-Chaperonin GroES Studied by 2D NMR and DMSO-Quenched Exchange Methods," *J. Mol. Biol.* **425**, 2541–2560 (2013).

**M. S. CHANDAK, T. NAKAMURA, T. TAKENAKA, T. K. CHAUDHURI, M. YAGI-UTSUMI, J. CHEN, K. KATO and K. KUWAJIMA**, "The Use of Spin Desalting Columns in DMSO-Quenched H/D-Exchange NMR Experiments," *Protein Sci.* **22**, 486–491 (2013).

**K. MAKABE, T. NAKAMURA and K. KUWAJIMA**, "Structural Insights into the Stability Perturbations Induced by N-Terminal Variation in Human and Goat  $\alpha$ -Lactalbumin," *Protein Eng., Des. Sel.* **26**, 165–170 (2013).

**A. MUKAIYAMA, T. NAKAMURA, K. MAKABE, K. MAKI, Y. GOTO and K. KUWAJIMA**, "Native-State Heterogeneity of  $\beta_2$ -Microglobulin as Revealed by Kinetic Folding and Real-Time NMR Experiments," *J. Mol. Biol.* **425**, 257–272 (2013).

**A. MUKAIYAMA, T. NAKAMURA, K. MAKABE, K. MAKI, Y. GOTO and K. KUWAJIMA**, "The Molten Globule of  $\beta_2$ -Microglobulin Accumulated at pH 4 and Its Role in Protein Folding," *J. Mol. Biol.* **425**, 273–291 (2013).

T. NAKAMURA, T. AIZAWA, R. KARIYA, S. OKADA, M. DEMURA, K. KAWANO, K. MAKABE and K. KUWAJIMA, "Molecular Mechanisms of the Cytotoxicity of Human  $\alpha$ -Lactalbumin Made Lethal to Tumor Cells (HAMLET) and Other Protein-Oleic Acid Complexes," *J. Biol. Chem.* **288**, 14408–14416 (2013).

A. OCHI, K. MAKABE, R. YAMAGAMI, A. HIRATA, R. SAKAGUCHI, Y. M. HOU, K. WATANABE, O. NUREKI, K. KUWAJIMA and H. HORI, "The Catalytic Domain of Topological Knot tRNA Methyltransferase (TrmH) Discriminates between Substrate tRNA and Nonsubstrate tRNA via an Induced-Fit Process," *J. Biol. Chem.* **288**, 25562–25574 (2013).

E. OHMAE, Y. MIYASHITA, S. TATE, K. GEKKO, S. KITAZAWA, R. KITAHARA and K. KUWAJIMA, "Solvent Environments Significantly Affect the Enzymatic Function of *Escherichia coli* Dihydrofolate Reductase: Comparison of Wild-Type Protein and Active-Site Mutant D27E," *Biochim. Biophys. Acta, Proteins Proteomics* **1834**, 2782–2794 (2013).

H. SEKIGUCHI, A. NAKAGAWA, K. MORIYA, K. MAKABE, K. ICHIYANAGI, S. NOZAWA, T. SATO, S. ADACHI, K. KUWAJIMA, M. YOHDA and Y. C. SASAKI, "ATP Dependent Rotational Motion of Group II Chaperonin Observed by X-Ray Single Molecule Tracking," *PLoS One* **8**, e64176 (2013).

M. YAGI-UTSUMI, T. KUNIHARA, T. NAKAMURA, Y. UEKUSA, K. MAKABE, K. KUWAJIMA and K. KATO, "NMR Characterization of the Interaction of GroEL with Amyloid  $\beta$  as a Model Ligand," *FEBS Lett.* **587**, 1605–1609 (2013).

Q. ZHANG, J. CHEN, K. KUWAJIMA, H. M. ZHANG, F. XIAN, N. L. YOUNG and A. G. MARSHALL, "Nucleotide-Induced Conformational Changes of Tetradecameric GroEL Mapped by H/D Exchange Monitored by FT-ICR Mass Spectrometry," *Sci. Rep.* **3**, 1247 (2013).

#### B-4) 招待講演

K. KUWAJIMA, "Sequential four-state folding/unfolding of goat  $\alpha$ -lactalbumin and its N-terminal variants," 5<sup>th</sup> Korea-Japan Seminar on Biomolecular Sciences—Experiments and Simulations, High1 Resort, Kanwon-do (Korea), February 2013.

K. KUWAJIMA, "Sequential four-state folding/unfolding of goat  $\alpha$ -lactalbumin and its N-terminal variants," the 17<sup>th</sup> Hiroshima International Symposium on Synchrotron Radiation—*Progress in materials science and synchrotron radiation*, Hiroshima University, Hiroshima, February–March 2013.

K. KUWAJIMA, "Molecular mechanisms of cytotoxicity of HAMLET and other protein-oleic acid complexes," International Symposium on Protein Folding and Its Biological Significance, Okazaki Conference Center, Okazaki, March 2013.

#### B-7) 学会および社会的活動

##### 学協会役員等

日本蛋白質科学会会長 (2010–2011).

日本蛋白質科学会副会長 (2008–2009).

日本生物物理学会中部支部長 (2009–2010).

日本蛋白質科学会理事 (2001.4–2005.3, 2012–).

日本生物物理学会運営委員 (1992–1993, 1999–2000).

The Protein Society, Executive Council (2005.8–2007.7).

日本生化学会評議員 (2005–).

#### 学会の組織委員等

第24回谷口国際シンポジウム“Old and New Views of Protein Folding,”木更津(かずさアカデミアパーク)世話人(1999).

The 1st International Conference on Biomedical Spectroscopy: From Molecule to Men, Cardiff (U.K.), 組織委員(2002).

The 1st Pasific-Rim International Conference on Protein Science, Yokohama (Japan), 組織委員(2004).

KIAS Conference on Protein Structure and Function, Seoul (Korea), 組織委員(2001-).

日本生物物理学会第45回年会, 横浜(パシフィック横浜)年会長(2007).

#### 文部科学省, 学術振興会, 大学共同利用機関等の委員等

日本学術振興会科学研究費委員会専門委員(2009, 2010, 2011, 2012, 2013).

文部科学省科学研究費審査部会専門委員会委員(2002, 2004, 2009, 2011).

JST 若手個人研究推進事業(さきがけ)領域アドバイザー(2001-2005).

JST 戦略的創造研究推進事業評価委員(2004, 2005).

#### 学会誌編集委員

*Folding & Design*, Editorial Board (1996-1998).

*Biochimica et Biophysica Acta*, Editorial Board (1998-2003).

*J. Biochem. (Tokyo)*, Editorial Board (1997-2002).

*Protein Science*, Editorial Board (2001-2006).

*Proteins: Structure, Function & Bioinformatics*, Editorial Board (1993-).

*J. Mol. Biol.*, Associate Editor (2004-2011).

*BIOPHYSICS*, Associate Editor (2005-).

*Spectroscopy—Biomedical Applications*, Editorial Board (2002-2011).

#### 競争的資金等の領域長等

特定領域研究「水と生体分子が織り成す生命現象の化学」領域代表者(2003-2007).

#### その他

総合研究大学院大学物理科学研究科長(2008.4-2010.3).

大阪大学蛋白質研究所外部評価委員(2000, 2007).

#### B-8) 大学での講義, 客員

The 12<sup>th</sup> KIAS Protein Folding Winter School, “Molecular Mechanisms of Protein Folding,” High1 Resort, Kanwon-do (Korea), January 21-25, 2013.

最終講義, “My studies on protein folding,” 岡崎コンファレンスセンター, 2013年3月6日.

#### B-10) 競争的資金

科研費特定領域研究「蛋白質一生(公募研究)」大腸菌シャペロニンの機能発現の速度論」桑島邦博(2002年-2003年).

科研費特定領域研究「水と生体分子(計画研究(2))」蛋白質フォールディング機構の物理化学的解明」桑島邦博(2003年-2007年).

科研費特定領域研究「水と生体分子(計画研究(1))」水と生体分子が織り成す生命現象の化学に関する研究の総括」桑島邦博(2003年-2007年).

科研費基盤研究(B),「シャペロニンの機能発現の速度論的解析」桑島邦博(2005年-2007年).

科研費特定領域研究(成果取りまとめ)「水と生体分子」,「水と生体分子が織り成す生命現象の化学に関する研究の総括」  
桑島邦博(2008年).

科研費基盤研究(B),「シャペロニン GroEL の第二の ATP 結合部位とその機能的役割」桑島邦博(2008年-2010年).

科研費新学術領域「揺らぎと生体機能」(計画研究)「シャペロニンの構造揺らぎとフォールディング介助機能」桑島邦博  
(2008年-).

#### C) 研究活動の課題と展望

2013年3月末に分子研を定年退職し,実験装置は全て整理したため,実験研究を継続できる研究環境にはない。今後は,  
計算機を用いて蛋白質のフォールディング開始部位を予測し,フォールディング速度過程について既知の実験結果との比較  
研究を行う予定である。

\* ) 2013年3月31日退職

2013年4月1日総合研究大学院大学学融合推進センター特任教授