

令和元年6月3日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K07323

研究課題名(和文) ヒト癌抑制遺伝子候補101F6によるレドックス擾乱細胞死誘導機構の解明

研究課題名(英文) Elucidation of induction mechanism of redox perturbed cell death by human tumor suppressor gene candidate 101F6

研究代表者

鏑木 基成 (Tsubaki, Motonari)

神戸大学・理学研究科・教授

研究者番号：00145046

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：我々はメタノール資化性酵母*Pichia pastoris*による101F6タンパク質発現系を用い、大量発現と高純度精製法を確立した。ヒト癌組織由来A549細胞より界面活性剤DDMあるいは-OGにより細胞抽出液を調製・回収した。細胞抽出液と精製101F6タンパク質を十分に混和した後、101F6タンパク質を特異的に認識・結合する抗体を用いた磁気beads抗体法により、101F6タンパク質と相互作用すると思われるタンパク質をSDS-PAGEと銀染色法で解析した。そこで生体膜の非常に良いモデルであるnanodisc中に精製した101F6タンパク質を再構成する事に成功し、さらに酵素活性測定に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、101F6タンパク質はferric reductase活性を持つ事が既に報告されているDcytbと同様にferric reductase活性を持つ事が初めて証明された。この結果は、101F6の持つcaspase非依存性アポトーシス誘導作用がferric reductase活性と何らかの関連を持つ事を示すものと考えられる。また、本研究において初めて精製したb561タンパク質ホモログそのものを用いてferric reductase酵素活性を直接に測定できる事を示した。そういう意味で本研究の意義は非常に大きい

研究成果の概要(英文)：We have succeeded to perform large-scale expression and high purity purification of 101F6 protein using the 101F6 protein expression system by employing the methanol-utilizing yeast *Pichia pastoris*. Cell extracts from human cancer tissue-derived A549 cells were prepared using surfactant DDM or -OG. After thoroughly mixing the cell extract with the purified 101F6 protein, followed by magnetic beads antibody method using antibodies that specifically recognize and bind the 101F6 protein, we obtained a group of proteins that seems to interact with the 101F6 protein in human cells by SDS-PAGE and silver staining analyses. Then we have succeeded in reconstituting the purified 101F6 protein into nanodiscs which are very good models of biological membranes. Further, we have succeeded in measuring the enzyme activity of purified 101F6 protein for the first time.

研究分野：生化学

キーワード：膜タンパク質 電子伝達 ヘム アポトーシス ナノディスク シトクロムb561 アスコルビン酸 生体膜

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) ヒト染色体 3p21.3 領域は肺癌・乳癌・腎癌など多くの上皮癌で高頻度に欠失を起こしている。Lerman や Minna らは領域中の 690kb の範囲中の 21 遺伝子が癌抑制遺伝子候補であるとした。これら遺伝子の 1 つ 101F6 遺伝子をアデノウイルスベクターによってヒト肺癌由来培養癌細胞に導入してやると、いくつかの癌細胞の増殖を顕著に阻害することがわかった。またこの癌細胞を移植しておいた *nu/nu* マウスに 101F6 遺伝子を同様な方法で導入すると、癌の成長や転移を妨げることも明らかにされた。これらの抑制効果は癌細胞に caspase 非依存性アポトーシスが誘導されるためであるとされている。しかもアスコルビン酸(AsA)の投与によりその効果が促進されるという結果も得られた。しかし 101F6 の持つ顕著な癌増殖抑制作用の分子機構は分かっていない。重要なことは 101F6 が b561 ファミリーの一員であり、AsA 及び MDA ラジカルが関与した細胞膜貫通レドックス反応が機能している可能性が高いことである。

(2) 元々 b561 は神経系特異的なヘム含有膜タンパク質として発見された。b561 は 6 回膜貫通ヘリックス構造を持つ疎水性タンパク質であり、細胞質側と小胞内側とに 1 個ずつ合計 2 個のヘムを持っている。b561 の生理的電子供与体は AsA であり、細胞質側ヘム近傍には AsA からの電子受容に関与すると思われる保存性正荷電アミノ酸残基が存在し、小胞内側ヘム近傍には MDA ラジカルへの電子供与に重要と思われる保存性配列が存在する。これら保存性残基・配列の役割は植物 b561 の部位特異的変異体の解析や最近明らかにされた *A. thaliana* b561 の X 線結晶解析により証明された。ヒトの持つ 6 種の b561 のうち、101F6 及び hb561-3 は神経系型及び植物型 b561 とは相当に異なった一次構造を持ち、それ故にその生理機能も相当に異なっていると予想される。

2. 研究の目的

(1) ヒト第 3 染色体 3p21.3 領域に存在する 101F6 遺伝子の持つ顕著な癌増殖抑制作用の分子機構は分かっていない。101F6 遺伝子産物(以下 101F6 と略記)は cytochrome b561(以下 b561 と略記)ファミリーの一員であり、アスコルビン酸(AsA)あるいはモノデヒドロアスコルビン酸(MDA)ラジカルが関与した細胞膜貫通レドックス反応がその生理機能発現に関与していると考えられる。

(2) 本研究では AsA/MDA ラジカルによる細胞膜内外でのレドックス擾乱をプログラム細胞死へと導く新規細胞内メッセージとして捉え、その細胞死シグナルを細胞膜・ER 膜において発生させあるいは制御する細胞膜素子としての 101F6 の役割と分子機構を解明することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 膜レドックス素子としての 101F6 の持つ顕著な癌増殖抑制作用の分子機構を分子生物学的・生物物理学的・細胞生物学的解析手法を用いて総合的に解明する。具体的には、アルコール資化性酵母(*Pichia pastoris*)を用いた 101F6 大量発現系を用いて、X 線結晶構造解析により 101F6 の詳細な立体構造を明らかにする、マイクロ流路デバイス(分子拡散型混合装置)を利用した時間分解計測系により AsA および MDA ラジカルとの初期反応素過程を詳細に解明し、プロテオリポソームを利用したナノスケールサイズの膜近接空間内において 101F6 と AsA/MDA ラジカルとの反応機構・作用機構をパルスラジオリシス手法により解析する。

4. 研究成果

(1) メタノール資化性酵母 *Pichia pastoris* GS115 株を利用した異種発現系を利用し、ヒト 101F6 タンパク質を発現させた。マイクロソーム膜を可溶化した後、101F6 タンパク質の C 末端に導入した His-tag 配列を利用した Ni-Sepharose affinity クロマトグラフィーによって 101F6 タンパク質を精製した。平行してヒト癌組織由来の A549 細胞を培養し、十分量の培養細胞を用いて界面活性剤により細胞膜を溶かして細胞抽出液を回収した。そこに精製した 101F6 タンパク質を加え混和して十分に相互作用させた後、101F6 タンパク質を特異的に認識する抗体を用いた磁気 Beads 抗体法により 101F6 タンパク質と共沈するタンパク質の SDS-PAGE を行った。SDS-PAGE ゲルを銀染色することにより、比較的再現性良く現れるタンパク質バンドを確認した。これらが細胞内において 101F6 タンパク質と何らかの相互作用をしている可能性が高いと推定された。

(2) この解析方法によって再現性のある結果を得るためには、101F6 タンパク質と界面活性剤とのミセル状態のままでは、たとえ精製したタンパク質を使用しても必ずしも生体膜中でのタンパク質間相互作用を反映していない可能性がある。そこで生体膜の非常に良いモデルであるナノディスク環境中に 101F6 タンパク質を再構成させた状態で免疫沈降・解析する計画を進めた。

(3) ナノディスクとして用いる MSP タンパク質として長さの異なる 3 種類を試みることにした。具体的には MSP1E3D1, MSP1D1, MSP1D1 H5 である。それぞれ構成するナノディスクの直径は 12.1nm, 9.7 nm, 9.0 nm と予想されている。それぞれの MSP タンパク質はその N 末端に 6xHis-tag 配列が付加されており、また精製後にその配列を除去するための TEV protease 認識部位も導入されている。しかし市販の TEV protease は高価であるため、認識部位のみを HRV3C protease 認識部位に置換した MSP タンパク質発現プラスミドを作製し、発現・精製方法も確立しておいた。

(4) 従来からの MSP タンパク質発現系を利用し 3 種類の MSP タンパク質を発現・精製した。これらの内、まずサイズの小さい MSP1D1 H5 を用いて 101F6 とのナノディスク再構成を試みた。最初の混合比について最適条件をいろいろ試みた結果、MSP1D1 H5:DMPC:101F6 の混合モル比が 2:160:

1の場合が最も良い再構成条件である事が判明した。

(5) 混合液中に BioBeads を添加することにより界面活性剤を除去し、101F6-nanodisc 複合体 (および空の nanodisc) を形成させた。Nanodisc 複合体を形成後、ゲルろ過クロマトグラフィーカラムにより精製した 101F6-nanodisc 複合体を SDS-PAGE により解析した結果、確かに複合体中には MSP1D1 H5 タンパク質の 22.0kDa のバンドと 101F6 タンパク質に由来する 22.5kDa のバンドが近接・分離して見られた。さらに精製標品を可視分光法により解析したところ確かに 101F6 タンパク質を含んでおり、その 101F6 のヘムは生理的基質であるアスコルビン酸(AsA)により素早く還元できる事が分かった。また dithionite 還元による完全還元型スペクトルも通常の DDM 界面活性剤によるミセル中にあるものと比較して何ら可視吸収スペクトルには変化が無いことが分かった。続いてタンパク質の安定性を調べるため室温において放置しておいたところ、3 日間放置しておいても 101F6 のヘムはアスコルビン酸により素早く還元できる事が分かった。これに対して DDM-micelle 中に可溶化した状態の 101F6 の場合には顕著にそのアスコルビン酸による還元能が失われ、しかも短波長側の吸収が上昇するなどタンパク質の安定性が失われる事が明らかとなった。以上のことから、101F6 をナノディスク中に再構成するとそのタンパク質安定性が顕著に増加することが判明した。

(6) 続いて dithionite 還元により 101F6-nanodisc のヘム還元型を作成したのち、前もって酸素を除去した buffer で平衡化したゲルろ過カラムに嫌氣的にアプライすることにより、酸素をできるだけ除去した状態で還元型 101F6-nanodisc を調製した。還元型ヘムの自動酸化過程について、可視分光吸収スペクトルをリピート測定することにより追跡した。その結果、自動酸化の過程は 1 次反応で近似できる事が分かった。DDM-micelle 中に可溶化した状態の 101F6 についても同様に還元型ヘム自動酸化の過程は 1 次反応で近似できる事が分かった。さらに、101F6-nanodisc の方がわずかに小さな値ではあるものの、同じ程度の 1 次反応速度定数を示す事が分かった。

(7) 続いて、嫌気状態で 101F6-nanodisc の還元型ヘムの自動酸化過程に対する三価鉄イオン (FAC: Ferric Ammonium Citrate) の嫌氣的添加による影響を調べた。その結果、還元型ヘムの自動酸化過程は FAC の濃度依存的にその速度が増加し、Michaelis-Menten 式に従う事がわかった。その際、FAC に対する $K_m=2.5 \mu\text{M}$ と見積もられた。この値は DDM-micelle 中に可溶化した状態の 101F6 の場合と比べ、約 10 倍低い値となり、nanodisc 中で 101F6 のタンパク質構造が安定化するため、より特異的に FAC と結合する事を示していると考えられた。

(8) 実際に 101F6-nanodisc の還元型ヘムから FAC の三価鉄イオンに電子が供与され、2 価鉄イオンが形成されている事を確かめるため、嫌気条件下で nitroso-PSAP と FAC を添加し、可視吸収スペクトル変化をリピートモードで測定した。その結果、還元型ヘムが酸化されて行くが、同じ程度の速度で FAC の 3 価鉄が還元されて遊離した 2 価鉄が nitroso-PSAP と複合体 (Fe^{2+} -nitroso-PSAP) を形成してその吸収ピークが 756 nm に現れることが確かめられた。その際、ヘム鉄に保持されている電子当量の約 20% 程度が実際の 3 価鉄還元反応に使われていることが推定された。

(9) 以上の結果より、101F6 タンパク質は ferric reductase 活性を持つ事が既に報告されている Dcytb と同様に ferric reductase 活性を持つ事が初めて証明された。この結果は、101F6 の持つ caspase 非依存性アポトーシス誘導作用が ferric reductase 活性と何らかの関連を持つ事を示すものと考えられる。

5 . 主な発表論文

[雑誌論文] (計 7 件)

Mohammed El Behery, Akikazu Asada, [Fusako Takeuchi](#), [Tetsunari Kimura](#), Eri Chatani, and [Motonari Tsubaki](#), Elucidation of molecular functions of human tumor suppressor protein 101F6 by reconstitution into phospholipid bilayer nanodiscs, *The Journal of the Kapisanang Kimika ng Pilipinas (KKP)*, 査読有り, 34th Philippine Chemistry Congress, (2019) (in press)

Ryosuke Matsubara, Tomoaki Kaiba, Akito Nakata, Tatsushi Yabuta, Masahiko Hayashi, [Motonari Tsubaki](#), Takashi Uchino, and Eri Chatani, 9-Aryl-3-aminocarbazole as an environment- and stimuli-sensitive fluorogen and applications in lipid droplet imaging, *J. Org. Chem.*, 査読有り, (2019), DOI: 10.1021/acs.joc.9b00493 (in press).

Seymour, Christopher Peter, Nakata, Akito, [Tsubaki](#), [Motonari](#), Hayashi, Masahiko, Matsubara, Ryosuke, A fluorescent naphthalenediimide-alkoxyfuroxan photoinduced nitric oxide donor, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 査読有り, 92, (2019), 162-169, doi: 10.1246/bcsj.20180219

Ryu Makino, Yuji Obata, [Motonari Tsubaki](#), Tetsutaro Iizuka, Yuki Hamajima, Yasuyuki Kato-Yamada, Keisuke Mashima, and Yoshitsugu Shiro, Mechanistic insights into the activation of soluble guanylate cyclase by carbon monoxide: A multi-step mechanism proposed for the BAY 41-2272-induced formation of 5-coordinate CO-heme, *Biochemistry*, 査読有り, 57, (2018), 1620-1631, DOI: 10.1021/acs.biochem.7b01240

Yuko Tsutsui, Kazuo Kobayashi, [Fusako Takeuchi](#), [Motonari Tsubaki](#), and Takahiro Kozawa, Reaction intermediates of nitric oxide synthase from *Deinococcus radiodurans* as revealed by pulse radiolysis: Evidence for intramolecular electron transfer from biopterin to $\text{Fe}^{\text{II}}\text{-O}_2$ complex, *Biochemistry* 査読有り, 57, (2018), 1611-1619, DOI: 10.1021/acs.biochem.7b00887

Christopher Peter Seymour, Rei Toda, [Motonari Tsubaki](#), Masahiko Hayashi and Ryosuke Matsubara, Photosensitization of fluorofuroxans and its application to the development of visible light-triggered nitric oxide donor, *J. Org. Chem.*, 査読有り, 82, (2017) 9647-9654, DOI:

〔学会発表〕(計 44 件)

- 坂本 有輝、鏝木 基成、ヒト cytochrome b561 form 3 (hb561-3)の分子機能解析、ワークショップ「非共有結合系の分子科学;計測技術から探る生体分子科学の新展開」ポスター発表 (P14) (2019/01/22~23) (神戸大学先端融合研究環・研究プロジェクト「非共有結合系分子科学研究」)
- Mohammed El Behery, Motonari Tsubaki, Studies on molecular functions of human tumor suppressor protein 101F6,ワークショップ「非共有結合系の分子科学;計測技術から探る生体分子科学の新展開」ポスター発表 (P13) (2019/01/22~23) (神戸大学先端融合研究環・研究プロジェクト「非共有結合系分子科学研究」)
- 西 綾音、中田 壯人、藤村 美香、鏝木 基成、金属還元酵素ヒトSteap4の分子機能解析、ワークショップ「非共有結合系の分子科学;計測技術から探る生体分子科学の新展開」ポスター発表 (P12) (2019/01/22~23) (神戸大学先端融合研究環・研究プロジェクト「非共有結合系分子科学研究」)
- 大西 萌、小堀 康博、杉本 宏、城 宜嗣、鏝木 基成、木村 哲就、部位特異的スピンラベルEPR分光法によるABCトランスポーター:BhuUVの構造変化測定、ワークショップ「非共有結合系の分子科学;計測技術から探る生体分子科学の新展開」ポスター発表 (P11) (2019/01/22~23) (神戸大学先端融合研究環・研究プロジェクト「非共有結合系分子科学研究」)
- 藤井 宏一、松原 亮介、鏝木 基成、木村 哲就、蛍光寿命計測によるACBPのフォールディング機構解析、ワークショップ「非共有結合系の分子科学;計測技術から探る生体分子科学の新展開」ポスター発表 (P10) (2019/01/22~23) (神戸大学先端融合研究環・研究プロジェクト「非共有結合系分子科学研究」)
- Sae Hayashi, Hiroshi Sugimoto, Yoshitugu Shiro, Yuka Ikemoto, Motonari Tsubaki, Tetsunari Kimura, Spectroscopic studies on the transport mechanism of heme ABC transporter, ワークショップ「非共有結合系の分子科学;計測技術から探る生体分子科学の新展開」ポスター発表 (P09) (2019/01/22~23) (神戸大学先端融合研究環・研究プロジェクト「非共有結合系分子科学研究」)
- 政安 梨緒、山本 良太、今村 比呂志、山本 直樹、松花 沙織、井上 邦夫、鏝木 基成、茶谷 絵理、アミロイド 繊維認識に關与するNLRP3-LRRドメインの構造特徴及び認識機構の解明、ワークショップ「非共有結合系の分子科学;計測技術から探る生体分子科学の新展開」ポスター発表 (P05) (2019/01/22~23) (神戸大学先端融合研究環・研究プロジェクト「非共有結合系分子科学研究」)
- 政安 梨緒、山本 良太、今村 比呂志、山本 直樹、松花 沙織、井上 邦夫、鏝木 基成、茶谷 絵理、炎症誘起タンパク質NLRP3のLRRドメインによるアミロイド 繊維の直接的認識、若手フロンティア研究会2018、神戸大学研究基盤センター、(C37)(神戸大学百年記念館、2018.12.21)(ポスター発表)
- 西 綾音、中田 壯人、藤村 美香、鏝木 基成、金属還元酵素ヒトSteap4の分子機能解明、若手フロンティア研究会2018、神戸大学研究基盤センター、(C24)(神戸大学百年記念館、2018.12.21)(ポスター発表)
- 坂本 有輝、田中 涼、高橋 優馬、鏝木 基成、ヒトcytochrome *b₅₆₁* form3(hb561-3)の分子機能解明、若手フロンティア研究会2018、神戸大学研究基盤センター、(C22)(神戸大学百年記念館、2018.12.21)(ポスター発表)
- Mohammed El Behery, Takako Yamazoe, Akikazu Asada, Fusako Takeuchi, Motonari Tsubaki, Studies on molecular functions of human tumor suppressor protein 101F6, 若手フロンティア研究会2018、神戸大学研究基盤センター、(B28)(神戸大学百年記念館、2018.12.21)(ポスター発表)
- Motonari Tsubaki, Iron metabolism in *C. elegans*: Cecytb-2, a homologue of cytochrome *b₅₆₁*, functions as a ferric-chelate reductase in *C. elegans*, Symposium on Advanced Spectroscopic Techniques, Institute of Mathematical Sciences and Physics, University of the Philippines Los Baños, September 18-21, 2018 (Invited Oral presentation; September 19)
- Koichi Fujii, Motonari Tsubaki, Tetsunari Kimura, Folding dynamics of acyl-CoA binding protein revealed by fluorescence lifetime measurements, 第56回日本生物物理学会年会(2018年9月)岡山大学 津島キャンパス(ポスター発表)
- Kizashi Onishi, Motonari Tsubaki, Yasuhiro Kobori, Tetsunari Kimura, Real-time measurements of the conformational changes in ABC transporter; BhuUV, revealed by site-directed spin-labeling EPR spectroscopy, 第56回日本生物物理学会年会(2018年9月)岡山大学 津島キャンパス(ポスター発表)
- Akito Nakata, Mika Fujimura, Fusako Takeuchi, Motonari Tsubaki, Analyses on the molecular function of human Steap3 as a ferric reductase, 第56回日本生物物理学会年会(2018年9月)岡山大学 津島キャンパス(ポスター発表)
- 福澤 美咲、藤村 美香、三浦 雅央、木村 哲就、鏝木 基成, Analyses on the ascorbate-specific electron transfer function of Cecytb-2, a cytochrome *b₅₆₁* homolog in *Caenorhabditis elegans* 線

- 虫Cytochrome b_{561} ホモログCecytb-2のアスコルビン酸特異的電子伝達反応解析,第56回日本生物物理学会年会(2018年9月)岡山大学 津島キャンパス(ポスター発表)
- 福澤 美咲、藤村 美香、三浦 雅央、木村 哲就、鰐木 基成, 線虫Cytochrome b_{561} ホモログCecytb-2のアスコルビン酸由来電子伝達反応解析,第91回日本生化学会大会(2018/9/24~9/26)国立京都国際会館(ポスター発表)
- 藤村 美香、三浦 雅央、木村 哲就、鰐木 基成, Cytochrome b_{561} ホモログ・線虫Cecytb-2の三価鉄還元酵素活性の分子機構Molecular mechanism of ferric reductase activity of *Caenorhabditis elegans* Cecytb-2, a cytochrome b_{561} homologue, 第91回日本生化学会大会(2018/9/24~9/26)国立京都国際会館(ポスター発表)
- 政安 梨緒、山本 良太、今村 比呂志、山本 直樹、鰐木 基成、茶谷 絵理,NLRP3におけるLRRドメインの構造特徴およびアミロイド 線維認識機構の解明 Investigation of structural properties of NLRP3-LRR domain and its affinity to amyloid- fibrils, 第91回日本生化学会大会(2018/9/24~9/26)国立京都国際会館(ポスター発表)
- 中田 壯人、藤村 美香、武内 総子、鰐木 基成, 金属還元酵素ヒトSteap3の分子機能解明, 第91回日本生化学会大会(2018/9/24~9/26)国立京都国際会館(ポスター発表)
- 21 Mohammed EL Behery, Takako Yamazoe, Akikazu Asada, Fusako Takeuchi, Motonari Tsubaki, Elucidation of apoptosis mechanism caused by human tumor suppressor 101F6 protein through vitamin C-induced redox disturbance”, (ポスター発表) 第 91 回日本生化学会大会 (国立京都国際会館)(2018/9/24~9/26)
- 22 小林一雄、筒井裕子、古澤孝弘、武内総子、鰐木基成, パルスラジオリシス法を用いた放射線耐性菌の一酸化窒素合成酵素の反応中間体の解析,(ポスター発表) 第 91 回日本生化学会大会(国立京都国際会館)(2018/9/24~9/26)
- 23 政安 梨緒、山本 良太、今村 比呂志、山本 直樹、鰐木 基成、茶谷 絵理, Analysis of structural properties of NLRP3-LRR domain that is involved in cellular recognition of amyloid- fibrils 細胞のアミロイド 線維認識に関わるNLRP3-LRRドメインの構造特徴の解明”,第18回日本蛋白質科学会年会(ポスター発表)
- 24 小林 一雄、筒井 裕子、古澤 孝弘、武内 総子、鰐木 基成,パルスラジオリシス法を用いた放射線耐性菌の一酸化窒素合成酵素の反応中間体の解析, 第 45 回生体分子科学討論会(2018年6月22日(金)~23日(土))(大阪市立大学・田中記念館)(口頭発表)
- 25 林 沙英、杉本 宏、城 宜嗣、池本 夕佳、鰐木 基成、木村 哲就, ABCトランスポーターのヘム輸送機構解析、若手フロンティア研究会 2017、神戸大学研究基盤センター、(C15)(神戸大学百年記念館、2017.12.21)(ポスター発表)
- 26 福澤 美咲、藤村 美香、三浦 雅央、木村 哲就、鰐木 基成、線虫 Cytochrome b_{561} ホモログCecytb-2 分子機能解明、若手フロンティア研究会 2017、神戸大学研究基盤センター、(C11)(神戸大学百年記念館、2017.12.21)(ポスター発表)
- 27 中田 壯人、藤村 美香、武内 総子、鰐木 基成、金属還元酵素ヒトSteap3の分子機能解明、若手フロンティア研究会 2017、神戸大学研究基盤センター、(C05)(神戸大学百年記念館、2017.12.21)(ポスター発表)
- 28 Mohammed El Behery, Takako Yamazoe, Akikazu Asada, Mika Fujimura, Motonari Tsubaki, Elucidation of apoptosis mechanism caused by human tumor suppressor 101F6 protein through vitamin C-induced redox disturbance, 2017 年度生命科学系学会合同年次大会 (ConBio2017) (3P-0951) (2017.12.8)(ポスター発表) (神戸国際会議場)
- 29 大塚 瑞樹、鰐木 基成、線虫 Cysteine desulfurase の生理機能解明、 2017 年度生命科学系学会合同年次大会 (ConBio2017) (2P-0086) (2017.12.7)(ポスター発表) (神戸国際会議場)
- 30 福澤 美咲、藤村 美香、三浦 雅央、鰐木 基成、木村 哲就、線虫 Cytochrome b_{561} ホモログCecytb-2 のアスコルビン酸からの電子伝達機能、 2017 年度生命科学系学会合同年次大会 (ConBio2017) (1P-0286) (2017.12.6)(ポスター発表) (神戸ポートピアホテル、神戸国際会議場)
- 31 中田 壯人、藤村 美香、武内 総子、鰐木 基成、金属還元酵素ヒトSteap3の分子機能解明、 2017 年度生命科学系学会合同年次大会 (ConBio2017) (1P-0281) (2017.12.6)(ポスター発表) (神戸国際会議場)
- 32 藤村 美香、三浦 雅央、木村 哲就、鰐木 基成、Cytochrome b_{561} ホモログ・線虫 Cecytb-2 の分子機能解明 (Elucidation of the molecular function of *Caenorhabditis elegans* Cecytb-2, a cytochrome b_{561} homologue), 2017 年度生命科学系学会合同年次大会 (ConBio2017) (1P-0274) (2017.12.6)(ポスター発表) (神戸国際会議場)
- 33 筒井 裕子、小林 一雄、武内 総子、鰐木 基成、古澤 孝弘, 放射線耐性菌一酸化窒素合成酵素の酸素活性化反応中間体に関する研究 (Direct Observation of an active intermediate in nitric oxide synthase from *Deinococcus radiodurans* as revealed by pulse radiolysis), 2017 年度生命科学系学会合同年次大会 (ConBio2017) (1P-0268) (2017.12.6)(ポスター発表) (神戸国際会議場)
- 34 中田 壯人、藤村 美香、武内 総子、鰐木 基成、金属還元酵素ヒトSteap3の分子機能解明 (Analyses on the molecular function of metalloredutase human Steap3), 第55回日本生物物理学会年会(熊本大学・黒髪北キャンパス)(3Pos072) (2017.9.19~21)(ポスター発表)
- 35 Mika Fujimura, Masahiro Miura, Tetsunari Kimura, Motonari Tsubaki, 線虫 Cytochrome b_{561} ホモログ・Cecytb-2 の分子機能解明 (Elucidation of the molecular function of *Caenorhabditis elegans*

- Cecytb-2, a cytochrome b_{561} homologue), 第 55 回日本生物物理学会年会(熊本大学・黒髪北キャンパス)(2Pos057) (2017.9.20)(ポスター発表)
- 36 東田 玲、高橋 優馬、山添 貴子、朝田 晃一、鏝木 基成、Cytochrome b_{561} ホモログ・ヒト SDR2 タンパク質のヒト培養細胞内局在解析及び酵母 *Pichia pastoris* を用いた異種発現系の構築、若手フロンティア研究会 2016、神戸大学研究基盤センター、(C25)(神戸大学百年記念館、2016.12.21)(ポスター発表)
 - 37 藤村 美香、三浦 雅央、木村 哲就、鏝木 基成、線虫 cytochrome b_{561} ホモログ Cecytb-2 の分子機能解明”、若手フロンティア研究会 2016、神戸大学研究基盤センター、(C15)(神戸大学百年記念館、2016.12.21)(ポスター発表)
 - 38 大塚 瑞樹、山添 貴子、鏝木 基成、Cytochrome b_{561} ホモログ *101F6* の癌抑制メカニズム解析”、若手フロンティア研究会 2016、神戸大学研究基盤センター、(B14)(神戸大学百年記念館、2016.12.21)(ポスター発表)
 - 39 山本 良太、山下 和人、今村 比呂志、山本 直樹、田村 厚夫、鏝木 基成、茶谷 絵理、様々な炎症物質を認識する NLRP3-LRR ドメインの構造基盤の解明、第 54 回日本生物物理学会年会(2016年11月25日～27日)(つくば国際会議場) 1Pos013(ポスター発表)
 - 40 山本 良太、山下 和人、今村 比呂志、鏝木 基成、茶谷 絵理、様々な炎症物質を認識する NLRP3-LRR ドメインの発現系の確立とその構造的基盤の解明、第 39 回日本分子生物学会年会(2016年11月30日～12月2日)(パシフィコ横浜)(2P-0073)(ポスター発表)
 - 41 藤村 美香、三浦 雅央、木村 哲就、鏝木 基成、Cytochrome b_{561} ホモログ・線虫 Cecytb-2 の分子機能解明”、第 89 回日本生化学会大会(2016年9月25日～27日)(仙台国際センター、東北大学)(3P-145)(ポスター発表)
 - 42 東田 玲、高橋 優馬、山添 貴子、朝田 晃一、鏝木 基成、Cytochrome b_{561} ホモログ・ヒト SDR2 タンパク質のヒト培養細胞内局在解析及び酵母 *Pichia pastoris* によるその異種タンパク質発現、第 89 回日本生化学会大会(2016年9月25日～27日)(仙台国際センター、東北大学)(ポスター発表)
 - 43 Motonari Tsubaki, Masahiro Miura, Mika Fujimura, Fusako Takeuchi, Hiroshi Hori, Kazuo Kobayashi, (invited lecture), Iron metabolism in *C. elegans*: Structure and functions of Cecytb-2, a homologue of cytochrome b_{561} , responsible for iron metabolism in *C. elegans*, Institute of Chemistry Seminar Series, Physical Sciences Building, University of the Philippines Los Banos (Los Banos, Laguna, Philippines), (September 15, 2016) (招待講演).
 - 44 山下 和人、山本 直樹、鏝木 基成、茶谷 絵理、- 残基アミノ酸挿入によるアミロイド タンパク質の線維形成機構の解明、第 16 回日本蛋白質科学会年会 (2016年6月7-9日)(福岡国際会議場)(ポスター発表)

[その他]

ホームページ等: URL: <http://www.chem.sci.kobe-u.ac.jp/staff/Tsubaki/>

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名: 木村哲就

ローマ字氏名: (KIMURA, Tetsunari)

所属研究機関名: 神戸大学

部局名: 理学研究科

職名: 特命講師

研究者番号(8桁): 70506906

研究分担者氏名: 武内総子

ローマ字氏名: (TAKEUCHI, Fusako)

所属研究機関名: 神戸大学

部局名: 大学教育推進機構

職名: 助教

研究者番号(8桁): 00448169

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。